

---

# SUMÁRIO – CONTENTS

---

## EDITORIAL

---

HPV: UM MONSTRO PRESTES A SER CONTROLADO . . . . .	71
Luisa Lina Villa	

## ARTIGOS/ARTICLES

---

INFECÇÃO PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM MULHERES DE FLORIANÓPOLIS, SANTA CATARINA. . . . .	73
<i>HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV) INFECTION IN WOMEN OF FLORIANÓPOLIS, SANTA CATARINA, BRAZIL</i>	
Edison N Fedrizzi, Cristiane G Schlup, Maria Elizabeth Menezes, Maristela Ocampos	
ASPECTOS ESTRUTURAIS DA FAMÍLIA DE UMA GESTANTE COM PAPILOMAVÍRUS HUMANO . . . . .	80
<i>STRUCTURAL ASPECTS OF THE FAMILY OF A PREGNANT WOMAN WITH HUMAN PAPILLOMAVIRUS</i>	
Ana Débora A Moura, Mirella TJ Nogueira, Saiwori JS Bezerra, Ana Karina B Pinheiro, Maria Grasiela T Barroso	
COINFEÇÃO DE <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i> E HPV EM MULHERES COM CONDILOMA ACUMINADO . . . . .	87
<i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS AND HPV COINFECTIONS IN WOMEN WITH CONDILOMA ACUMINATA</i>	
Larissa D Marcolino, Jossimara Poletini, Andréa R Tristão, Mariângela Esther A Marques, João Manuel G Candeias, Rodrigo Alessandro R Vela, Márcia G Silva	
COMPARAÇÃO DE DOIS PARES DE OLIGONUCLEOTÍDEOS UTILIZADOS NA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE PARA DETECÇÃO DE PAPILOMAVÍRUS HUMANOS EM ESFREGAÇOS CERVICAIS. . . . .	93
<i>COMPARISON OF TWO PAIRS OF PRIMERS USED IN POLYMERASE CHAIN REACTION FOR THE DETECTION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUSES IN CERVICAL SMEARS</i>	
Ivna M Magalhães, Natalia Moysés, Larissa A Afonso, Ledy HS Oliveira, Sílvia Maria B Cavalcanti	
EVALUATION OF THE COMBINED USE OF PAPANICOLAOU SCREEN TEST AND THE POLYMERASE CHAIN REACTION FOR THE IDENTIFICATION OF PATIENTS AT RISK OF CERVICAL CANCER. . . . .	99
<i>AVALIAÇÃO DO USO COMBINADO DO TESTE DE TRIAGEM DE PAPANICOLAOU E DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE PARA IDENTIFICAÇÃO DE PACIENTES EM RISCO DE CÂNCER CERVICAL</i>	
Natalia Moysés, Daniele S Balthazar, Larissa A Afonso, Ledy HS Oliveira, Sílvia Maria B Cavalcanti	
ASSOCIAÇÃO ENTRE ÍNDICE DE CÉLULAS CD4 E ALTERAÇÕES GINECOLÓGICAS EM MULHERES HIV POSITIVAS . . . . .	104
<i>ASSOCIATION BETWEEN CD4 SEROLOGICAL LEVELS AND GYNECOLOGICAL PROBLEMS AMONG HIV+ WOMEN</i>	
Renata M Rosenthal, Mariângela F Silveira, Vera Maria A Brum	
PAPILOMAVIROSE HUMANA EM GENITAL, PARTE I . . . . .	108
<i>GENITAL HUMAN PAPILLOMAVIROSIS, PART I</i>	
Mauro Romero L Passos, Gutemberg Almeida, Paulo César Giraldo, Sílvia Maria B Cavalcanti, João Carlos Côrtes Junior, Renato S Bravo, Renata Q Varela, Susana CA Fialho, Isabel CC Val	
BIOMARCADORES NA TRIAGEM DO CÂNCER DO COLO UTERINO. . . . .	125
<i>BIOMARKERS IN CERVICAL CANCER SCREENING</i>	
Lara Termini & Luisa Lina Villa	
PREVENÇÃO DA INFEÇÃO HPV E LESÕES ASSOCIADAS COM O USO DE VACINAS . . . . .	132
<i>HPV INFECTION AND LESION PREVENTION USING HPV VACCINE</i>	
Paulo C Giraldo, Maria José PMA Silva, Edison N Fedrizzi, Ana Katherine S Gonçalves, Rose Luce G Amaral, José Eleutério Junior, Iaponira V Figueiredo	
CONDILOMA GIGANTE ANO-GENITAL EM MENINA DE 12 ANOS VÍTIMA DE ABUSO SEXUAL - RELATO DE CASO . . . . .	141
<i>GIANT ANOGENITAL CONDYLOMA IN 12-YEAR-OLD-GIRL VICTIM OF SEXUALLY ABUSED – A CASE REPORT</i>	
Araiz CC Pereira, Maria Luiza B Menezes, Angelina F Maia, Romualda CR Barros, Deyse S Carmo	
CONDILOMA ACUMINADO EXTRAGENITAL ASSOCIADO AO INTERTRIGO: RELATO DE CASO . . . . .	145
<i>ACUMINATA CONDYLOMA EXTRAGENITAL ASSOCIATED TO INTERTRIGO: CASE REPORT</i>	
Helena Lucia B Reis, Alessandra A Oliveira, Bruna O Capilla, Daniela Pratti, Dennis C Ferreira, Philippe Godefroy C Souza, Antônio Chambô Filho	
REATIVAÇÃO DE HPV GENITAL EM PACIENTE INFECTADA PELO HIV ASSOCIADA À SÍNDROME DA RECONSTITUIÇÃO INFLAMATÓRIA IMUNE. . . . .	148
<i>REACTIVATION OF GENITAL HPV INFECTION IN A PATIENT INFECTED BY HIV ASSOCIATED WITH IMMUNE RECONSTITUTION INFLAMMATORY SYNDROME</i>	
Regina Célia SC Fernandes, Luciana C Araújo, Enrique Medina-Acosta	



**ÓRGÃO OFICIAL DA SOCIEDADE  
BRASILEIRA DE DOENÇAS SEXUALMENTE  
TRANSMISSÍVEIS**

Av. Roberto Silveira, 123 - Niterói - RJ - Brasil  
CEP 24230-150 - Tel.: (21) 2710-1549

[www.dstbrasil.org.br](http://www.dstbrasil.org.br)

DIRETORIA SBDST (2006 – 08)

**Presidente:**

Maria Luiza Bezerra Menezes - Pernambuco (SBDST-PE)

**Vice-Presidente:**

Mauro Romero Leal Passos - Rio de Janeiro (SBDST-RJ)

**1º Secretário:**

Adele Schwartz Benzaken - Amazonas (SBDST-AM)

**2º Secretário:**

Paulo César Giraldo - São Paulo (SBDST-SP)

**1º Tesoureiro:**

Carlos Alberto Sá Marques - Pernambuco (SBDST-PE)

**2º Tesoureiro:**

Mariângela Silveira - Rio de Grande do Sul (SBDST-RS)

**Diretor Científico:**

Geraldo Duarte - São Paulo (SBDST-SP)

**Conselho Fiscal:**

Newton Sérgio de Carvalho - Paraná (SBDST-PR)

Rosane Ribeiro Figueiredo Alves - Goiás (SBDST-GO)

Terezinha Tenório da Silva - Pernambuco (SBDST-PE)

**REGIONAL ALAGOAS**

**Presidente:** Cledna Bezerra de Melo

**REGIONAL AMAZONAS**

**Presidente:** João Catarino Dutra Júnior

**REGIONAL BAHIA**

**Presidente:** Roberto Dias Fontes

**REGIONAL CEARÁ**

**Presidente:** Ivo Castelo Branco Coêlho

**REGIONAL DISTRITO FEDERAL**

**Presidente:** Maria Josenilda G. Silva (DF)

**REGIONAL ESPÍRITO SANTO**

Lúcia Helena M. Lima (ES)

**REGIONAL GOIÁS**

**Presidente:** Rosane Figueiredo Alves

**REGIONAL PARÁ**

**Presidente:** Jorge Vaz

**REGIONAL PARANÁ**

**Presidente:** Newton Sérgio de Carvalho

**REGIONAL PERNAMBUCO**

**Presidente:** Carlos Alberto Sá Marques

**REGIONAL RIO DE JANEIRO**

**Presidente:** Mauro Romero Leal Passos

**REGIONAL RIO GRANDE DO NORTE**

**Presidente:** Jair Maciel de Figueiredo

**REGIONAL RIO GRANDE DO SUL**

**Presidente:** Mariângela Silveira

**REGIONAL RONDÔNIA**

**Presidente:** Alberto Saraiva Tibúrcio

**REGIONAL SÃO PAULO**

**Presidente:** Paulo César Giraldo



**ÓRGÃO OFICIAL DA ASSOCIAÇÃO LATINO-AMERICANA E  
CARIBENHA PARA O CONTROLE DAS DST**

**Presidente:** Adele Schwartz Benzaken (Brasil)

**1º Vice-Presidente:** Enrique G. Garcia (Cuba)

**2º Vice-Presidente:** Alicia Farinati (Argentina)

**3º Vice-Presidente:** Anibal H. Pinochet (Chile)

**4º Vice-Presidente:** Mauro Cunha Ramos (Brasil)

**1º Secretário:** Mauro Romero Leal Passos (Brasil)

**2º Secretário:** Freddy T. Guzman (Bolívia)

**1º Tesoureiro:** José Carlos G. Sardinha (Brasil)

**2º Tesoureiro:** Miguel Tilli (Argentina)

**Diretor Científico:** Paulo César Giraldo (Brasil)

**Diretor Científico Adjunto:** Newton Carvalho (Brasil)

**Diretor Científico Adjunto:** Patrícia J. Garcia (Peru)

**Conselho Fiscal:** Maria Luiza Bezerra Menezes (Brasil)

Renata de Queiroz Varella (Brasil)

Vandira Maria dos S. Pinheiro (Brasil)



**JB DST** é o órgão oficial para a  
América Latina da União  
Internacional Contra as  
Infecções de Transmissão Sexual (IUSTI)

**Presidente:**

James Bingham

**Secretário Geral:**

Ron Ballard

Filiado à  
Associação Brasileira  
de Editores Científicos



**CONSELHO EDITORIAL**

**Editor Chefe:**

Mauro Romero Leal Passos (RJ)

**Editores:**

Paulo César Giraldo (SP)

Rosane Figueiredo Alves (GO)

**Comissão Editorial:**

Adele Schwartz Benzaken (AM)

Geraldo Duarte (SP)

Gesmar Volga Haddad Herdy (RJ)

Gutemberg Leão de Almeida Filho (RJ)

Iara Moreno Linhares (SP)

Ledy do Horto dos Santos Oliveira (RJ)

Ivo Castelo Branco Coêlho (CE)

Maria Luiza Bezerra Menezes (PE)

Mauro Cunha Ramos (RS)

Newton Sérgio de Carvalho (PR)

Tomaz Barbosa Isolan (RS)

Vandira Maria dos Santos Pinheiro (RJ)

Walter Tavares (RJ)

**Comissão Editorial Internacional:**

Alicia Farinati (Argentina)

Enrique Galbán García (Cuba)

Peter Piot (UNAIDS-Suíça)

Rui Bastos (Moçambique)

Steven Witkin (EUA)

**Assistentes de Edição:**

Felipe Dinau (RJ)

Mariana Dinau (RJ)

Thais Martins (RJ)

Priscilla Madureira (RJ)

**Secretaria:**

Dayse Felício (RJ)

**ÓRGÃO OFICIAL DO SETOR  
DE DOENÇAS SEXUALMENTE  
TRANSMISSÍVEIS**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
CCM/CMB/MIP  
SETOR DE DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS**

Outeiro de S. João Batista, s/nº  
Campus do Valonguinho - Centro  
Niterói - RJ - 24210-150 - Brasil  
Tel.: 55 (21) 2629-2495 - 2629-2494  
Fax: 55 (21) 2629-2507  
**E-mail:** [dst@vm.uff.br](mailto:dst@vm.uff.br)  
[www.uff.br/dst](http://www.uff.br/dst)

**Reitor da UFF:**

Roberto de Souza Salles

**Vice-Reitor:**

Emmanuel Paiva de Andrade

**Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação**

Antonio Cláudio Lucas da Nóbrega

**Chefe do Setor de DST**

Mauro Romero Leal Passos



Editora da Universidade Federal Fluminense  
<http://www.editora.uff.br>

**MINISTÉRIO DA SAÚDE**

**Ministro**

José Gomes Temporão

**PROGRAMA NACIONAL  
DE DST E AIDS**

Mariângela Batista Galvão Simão

As matérias assinadas e publicadas no  
**DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente  
Transmissíveis** são de  
responsabilidade exclusiva de seus  
respectivos autores, não refletindo  
necessariamente a opinião dos editores.

**Direcionamento e Distribuição:**

DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis é direcionado aos sócios da SBDST, assinantes, bibliotecas, centros de referência, ginecologistas, urologistas, infectologistas, dermatologistas, clínicos, programas saúde da família e entidades com convênio. É trimestral com tiragem de 3.000.

**Pode-se permuta - Exchange requested  
On prie l'échange - Se solicita ei cazje  
Mau bitet nu Austausch - Si prega lo escambo**

**INDEXADA: LILACAS EXPRESS** - Literatura  
Latino-Americana  
em Ciências da Saúde,  
**Library of the Congress - WC - 140**

É proibida a reprodução total ou parcial do DST - JBDST sem a expressa autorização do editor.

## HPV: Um Monstro Prestes a ser Controlado

---

Há quase 30 anos foram publicados os primeiros trabalhos identificando as sequências gênicas de uma família de pequenos vírus de DNA, dentre os quais alguns já tinham sido classificados como carcinogênicos em animais<sup>1</sup>. O trabalho pioneiro do francês Gérard Orth, da polonesa Stefania Jablonska, do alemão Harald zur Hausen, dos americanos Peter Howley e Doug Lowy, entre tantos outros, serviu de base para o estabelecimento de uma das mais fortes associações entre um agente biológico e câncer. Inúmeros trabalhos epidemiológicos consolidaram a suspeita associação, lado a lado com as descobertas das pesquisas que comprovaram o potencial oncogênico de alguns HPV.

Classificados entre os mais potentes carcinógenos em humanos, são hoje considerados os responsáveis por pelo menos 5% de todos os cânceres no mundo, proporção esta que chega a 15% dos cânceres em mulheres que vivem em países em desenvolvimento. As estimativas mundiais indicam que aproximadamente 10% de mulheres normais estão infectadas com HPV e que a cada ano surgem em torno de 500.000 casos novos de câncer do colo do útero, sendo o segundo tumor mais incidente entre as mulheres de todo o mundo. Entretanto, enquanto as taxas de mortalidade estão em sexto ou sétimo lugar nos países desenvolvidos, ocupam a segunda posição entre os cânceres que mais matam mulheres em países em desenvolvimento.

Além disso, os HPV de alto risco são os agentes causais de uma proporção significativa de outros tumores, incluindo uma parte dos cânceres de vulva, vagina, pênis e ânus, além de tumores da orofaringe, afetando proporções consideráveis também de homens. Não bastasse, os HPV são agentes causais de uma série de patologias benignas tanto de epitélios mucosos quanto cutâneos, destacando-se as verrugas genitais e as papilomatoses respiratórias recorrentes. Em 2008, estas grandes descobertas foram reconhecidas ao se atribuir o prêmio Nobel de Medicina a Harald zur Hausen, do *Deutsches Krebsforschungszentrum*, em Heidelberg.

Das primeiras suspeitas de envolvimento etiológico, até o desenvolvimento de vacinas profiláticas contra os principais tipos de HPV que afetam a humanidade, passaram-se 40 anos. Hoje podemos contar com medidas eficazes de prevenção das principais infecções por HPV e, por conseguinte, das patologias a elas associadas. A rápida incorporação destas vacinas, inclusive em programas nacionais de imunização de diversos países, vem ao encontro da necessidade de adoção de medidas preventivas mais eficazes contra tumores que afetam centenas de milhares de indivíduos a cada ano, em todo o mundo.

A Organização Mundial da Saúde acaba de publicar um documento recomendando tais vacinas como formas efetivas de redução da incidência e mortalidade de cânceres muito comuns, indicando a vacina quadrivalente de HPV (Merck & Co., USA) por também prevenir verrugas genitais e lesões

de baixo grau causadas pelos HPV de baixo risco oncogênico 6 e 11<sup>2</sup>. Recentemente foram apresentados resultados muito positivos relativos à redução em pouco tempo de algumas destas doenças, em consequência da introdução de vacinação contra o HPV<sup>3</sup>. Uma clínica de referência de doenças de transmissão sexual em Melbourne, na Austrália, detectou 50% de redução na incidência de verrugas genitais em mulheres até 26 anos, a mesma população que naquele país foi imunizada com a vacina quadrivalente de HPV através de um programa nacional lançado em 2007, que alcançou altas taxas de cobertura. O mesmo não se observou para mulheres acima de 26 anos, uma clara indicação da eficácia da vacinação no grupo etário incluído no programa. Interessantemente, entre os homens heterossexuais, um decréscimo de 17% na taxa de verrugas genitais foi registrado, possivelmente indicando um efeito de imunidade de rebanho, ainda por ser demonstrado. Nenhuma redução foi observada entre homens que se relacionam com homens, o que provoca a discussão com relação a vacinar apenas mulheres ou mulheres e homens.

Apesar de resultados tão promissores, ainda há muito por fazer. A começar pela revisão do conceito de prevenção do câncer do colo do útero, baseado há anos na aplicação repetida do teste de Papanicolaou. Embora este exame seja altamente efetivo no diagnóstico precoce e na prevenção do câncer invasivo do colo do útero, as taxas de mortalidade e incidência mantêm-se entre as mais elevadas dentre os tumores malignos que ocorrem nas mulheres brasileiras. Isto se deve principalmente pela baixa cobertura populacional, além das limitações inerentes ao teste em si, incluindo-se sua sensibilidade moderada a baixa.

Dispõe-se hoje de testes moleculares que detectam o DNA ou RNA de HPV. No entanto, ainda se discute amplamente o tipo e o formato destes testes de laboratório e a sua disponibilização em larga escala. Mais ainda, as interpretações de seu significado clínico são muito variadas e frequentemente carecem de base científica, sobretudo quando o objetivo é avaliar a utilidade de diferentes métodos moleculares no contexto de sua utilização no rastreamento secundário (ou primário) do câncer do colo do útero. Estes estudos devem-se revestir de muita importância, dada a premência de definição das estratégias que serão adotadas, à medida que se introduz a vacinação profilática contra o HPV. Neste sentido, é extremamente importante frisar a contínua necessidade de uso de um teste de rastreamento, mesmo após a introdução de vacinas profiláticas, uma vez que as mesmas têm eficácia em prevenir apenas uma proporção dos tumores causados pelos tipos mais comuns, mas não todos.

Neste sentido, destacam-se os esforços para introdução de novas metodologias para rastreamento, sobretudo em países com poucos recursos. Um desses estudos foi conduzido em províncias rurais da China, com pouquíssima infraestrutura laboratorial<sup>4</sup>. Demonstrou-se a utilidade de um teste de DNA capaz de detectar

os 14 tipos de HPV de alto risco mais comumente associados a câncer do colo do útero no rastreamento primário, com alta especificidade e sensibilidade para detecção de lesões de alto grau na cérvix uterina. Ainda mais impressionante é o estudo conduzido na Índia, que demonstrou a utilidade de um único teste de DNA de HPV de alto risco oncogênico na redução das taxas de incidência e mortalidade por câncer do colo do útero, quando comparado com citologia oncológica e inspeção visual da cérvix uterina<sup>5</sup>. O futuro é promissor para o estabelecimento das melhores estratégias de prevenção destes tumores tão comuns, inclusive no Brasil<sup>6</sup>. É muito oportuno que o governo brasileiro tenha aprovado a criação de um Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do HPV para liderar pesquisas nesta área ([http://www.cnpq.br/programas/inct/\\_apresentacao/inct\\_hpv.html](http://www.cnpq.br/programas/inct/_apresentacao/inct_hpv.html)).

Em outra escala, mas não menos importante, está a falta de conhecimento sobre o assunto, que provoca o uso indiscriminado de testes moleculares de HPV na prática clínica. É preciso insistir na transmissão adequada de informações e de protocolos entre os profissionais da saúde, ou continuaremos “tratando o que não deve ser tratado” e deixando de “prevenir o que pode ser prevenido”. De um lado, está disponível uma ferramenta de prevenção primária muito eficaz (vacinas profiláticas) que beneficiará a muitos, sobretudo antes da exposição a estes vírus. De outro, um grande contingente de mulheres (e homens) já infectados por diferentes tipos de HPV, e uma quantidade expressiva de manifestações clínicas, de diferentes graus de severidade. Para esta população há a oferta de um sem-número de procedimentos médicos, nem sempre eficazes. Daí o grande interesse no desenvolvimento de vacinas terapêuticas, capazes de eliminar as células infectadas e controlar o estabelecimento da doença ou até de sua progressão. Além disso, é incessante e intensa a busca de marcadores tumorais capazes de especificamente atribuir riscos diferenciados aos distintos tumores associados ao HPV. Tais assuntos foram explorados neste número do JBDST.

A oportunidade da intervenção segura e eficaz não pode ser adiada: a cada momento morre-se de câncer de colo do útero no país e no mundo. Estima-se que em 20 ou 30 anos, as taxas

deste tumor possam alcançar aquelas já tão elevadas de câncer de mama. Além disso, através de vacinação, poderemos evitar tumores de vulva, vagina e outros, etiologicamente vinculados aos mesmos tipos de HPV. Assim como aconteceu em relação à infecção por HIV, a comunidade científica do país tem um papel fundamental na conscientização da sociedade sobre a prevenção das doenças relacionadas ao HPV e de outras doenças de transmissão sexual. E a sociedade tem o direito de saber e exigir o que há de melhor para assegurar sua saúde. Esperemos que não passem décadas antes que programas mais eficazes de prevenção sejam introduzidos. O percurso é árduo e requer muita determinação, mas nunca perderemos ao investir em educação e informação em todos os níveis. Enquanto não forem tomadas as decisões políticas e econômicas necessárias à implementação de programas em massa, pelo menos manteremos o “monstro” sob controle!

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gissmann L, zur Hausen H. Partial characterization of viral DNA from genital warts (condylomata acuminata). *Int J Cancer* 1980; 25(5): 605-9.
2. WHO position paper on HPV vaccines. April 2009. Disponível em: <http://www.who.int/immunization/documents/positionpapers/>
3. Fairley C, Hocking J, Gurrin LC, Chen MY, Donovan B, Bradshaw CS. Rapid decline in genital warts after national quadrivalent HPV vaccine program. Abstract presented at the International Papillomavirus Conference in Malmo, Sweden, may 2009.
4. Qiao YL, Sellors JW, Eder PS, Bao YP, Lim JM, Zhao FH et al. A new HPV-DNA test for cervical cancer screening in developing regions: a cross-sectional study of clinical accuracy in rural China. *Lancet Oncol* 2008; 9(10): 929-36.
5. Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS, Jayant K, Muwonge R, Budukh AM et al. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N Engl J Med* 2009; 360(14):1453-5.
6. Villa LL. Assessment of new technologies for cervical cancer screening. *Lancet Oncol* 2008; 9(10): 910-1.

**LUISA LINA VILLA**

Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer, São Paulo  
llvilla@ludwig.org.br

# INFECÇÃO PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM MULHERES DE FLORIANÓPOLIS, SANTA CATARINA

## HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV) INFECTION IN WOMEN OF FLORIANÓPOLIS, SANTA CATARINA, BRAZIL

Edison N Fedrizzi<sup>1</sup>, Cristiane G Schlup<sup>2</sup>, Maria Elizabeth Menezes<sup>3</sup>, Maristela Ocampos<sup>4</sup>

### RESUMO

**Introdução:** a infecção pelo papilomavírus humano (HPV) é a doença sexualmente transmissível mais frequente no mundo e apresenta um amplo espectro de manifestações, desde a infecção assintomática até o carcinoma invasivo. Estima-se que pelo menos 50% das pessoas sexualmente ativas venham a adquirir esta infecção em algum momento de suas vidas. **Objetivo:** determinar a prevalência da infecção pelo HPV e identificar a frequência dos grupos virais de baixo e alto risco oncogênico em mulheres atendidas para consulta ginecológica de rotina em Florianópolis, bem como verificar a associação entre a presença do vírus e alguns fatores de risco. **Métodos:** trata-se de estudo transversal, de caráter descritivo. Foram avaliadas 100 mulheres atendidas em ambulatório para consulta ginecológica de rotina, selecionadas aleatoriamente. Todas tiveram amostra cervical submetida ao teste de DNA-HPV pelo método de Captura Híbrida II® e responderam a um questionário sobre fatores de risco. **Resultados:** das 100 mulheres analisadas, 21 (21%) apresentaram positividade para o DNA-HPV. O HPV de alto risco oncogênico esteve presente em 71% e o de baixo risco em 52% das amostras positivas, incluindo as infecções mistas. A infecção pelo vírus de alto risco foi associada às pacientes com início de atividade sexual precoce. Outros fatores avaliados como idade, escolaridade, número de parceiros sexuais, paridade, uso de anticoncepcionais orais, doença sexualmente transmissível e tabagismo não mostraram relação com a infecção pelo HPV. **Conclusão:** a prevalência de HPV na população estudada foi de 21%, com 71% para vírus de alto risco e 52% para vírus de baixo risco oncogênico, incluindo infecções mistas. A detecção do vírus de alto risco foi associada ao início precoce de atividade sexual.

**Palavras-chave:** papilomavírus humano, carcinoma de colo uterino, HPV, DST

### ABSTRACT

**Introduction:** the Human Papillomavirus (HPV) infection is the most frequent sexually transmitted disease in the world and has many clinical manifestations, from asymptomatic infection to invasive carcinoma. At least 50% of sexually active people will have this infection in their life. **Objective:** to determine the prevalence of HPV and identify the frequency of high risk and low risk virus groups in women attending gynecologic routine as well as evaluate the association between the presence of these viruses and some risk factors. **Methods:** this is a cross-sectional study. A hundred randomized selected women who attended the gynecologic service for routine test were evaluated. All of them had cervical specimens tested for DNA-HPV by the Hybrid Capture II assay and answered a questionnaire to access risk factors. **Results:** twenty-one (21%) out of 100 analyzed women showed positivity for DNA-HPV. High risk HPV was detected in 71% and low risk HPV in 52% of positive specimens, including mixed infections. Infection with high risk types was associated with younger age at first sexual intercourse. Other evaluated risk factors such as age, level of education, number of sexual partners, parity, use of oral contraceptives, sexually transmitted disease and smoking did not show relation to HPV infection. **Conclusion:** the prevalence of HPV in the studied population was 21%, with 71% of high risk virus and 52% of low risk types, including mixed infections. High risk HPV detection was associated with younger age at first sexual intercourse.

**Keywords:** Human Papillomavirus infection, cervical carcinoma, HPV, STD

## INTRODUÇÃO

A prevalência da infecção pelo papilomavírus humano (HPV) em mulheres de 15 anos a 74 anos varia de 1,4% a 25,6%, dependendo da região estudada, sendo considerada a infecção de transmissão sexual mais frequente do mundo.<sup>1</sup> A infecção anogenital pelo HPV pode causar um amplo espectro de manifestações clínicas, incluindo verrugas genitais, neoplasia intraepitelial cervical, vaginal e vulvar (NIC, NIVA e NIV respectivamente), e câncer anal e genital.<sup>2</sup> A transmissão por via sexual representa a grande maioria dos casos. Pode também ocorrer transmissão não sexual, como ocorre com as verrugas cutâneas, por fômites (toalhas, roupas íntimas etc.) e materno-fetal (gestacional, intra e periparto). Embora não se saiba por quanto tempo o vírus resista fora do organismo, considera-se que a transmissão por fômites seja viá-

vel por um curto período de tempo.<sup>3</sup> Quando infecta uma célula, o vírus pode permanecer em estado latente por muitos anos, bem como apresentar manifestações clínicas ou subclínicas.<sup>3</sup>

Estima-se que pelo menos 50% dos indivíduos sexualmente ativos irão adquirir algum tipo de HPV durante a vida, e que 80% das mulheres entrarão em contato com algum HPV até os 50 anos de idade.<sup>4</sup> Na maioria dos indivíduos, as infecções por HPV são assintomáticas e transitórias; 70% das infecções novas regridem em até 1 ano, e do restante, cerca de 90% em 2 anos.<sup>5</sup> Estudos epidemiológicos mostram que apenas uma pequena parcela das mulheres infectadas com HPV de alto risco progride para lesão intraepitelial de alto grau e câncer.<sup>4,5</sup> O tipo de HPV, a carga viral e a detecção persistente do vírus são compreendidos como marcadores importantes para o risco de progressão para câncer invasivo.<sup>4</sup> O tempo médio entre a infecção inicial e a manifestação do câncer cervical é de aproximadamente 15 anos.<sup>6</sup>

Existem mais de 45 genótipos destes vírus que infectam a área anogenital, tanto em homens quanto em mulheres, que se associam a lesões benignas e cânceres invasivos. Os vírus que infectam a área genital são classificados em tipos de HPV de baixo risco e de alto risco oncogênico.<sup>7</sup> A maioria das doenças associadas ao HPV são causadas pelos HPV tipos 6, 11, 16 e 18. Os HPV tipos 6 e 11 (baixo risco oncogênico) são responsáveis pela maior parte dos casos de verrugas genitais (90%) e uma par-

<sup>1</sup>Professor Assistente de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Chefe do Centro de Pesquisa Clínica Projeto HPV do Hospital Universitário da UFSC.

<sup>2</sup>Acadêmica do Curso de Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina.

<sup>3</sup>Doutora em Biologia Molecular, Presidente do Instituto de Biotecnologia Aplicada (IBIOTECNO).

<sup>4</sup>Doutora em Genética Molecular e Microorganismos, Diretora Científica do Instituto de Biotecnologia Aplicada (IBIOTECNO).

cela dos casos de neoplasia intraepitelial de baixo grau do colo uterino e vulva. Os casos de lesões intraepiteliais cervicais de alto ou baixo grau que irão evoluir para o carcinoma são aqueles associados aos vírus de alto risco oncogênico. Os HPV oncogênicos tem tropismo por células do epitélio de transição da ectocérvice, as quais infectam e induzem a transformação neoplásica. A persistência da infecção com esses tipos específicos de HPV, em particular os tipos 16 e 18, é o fator responsável pelo desenvolvimento, manutenção de uma neoplasia intraepitelial cervical e progressão para o câncer invasor.<sup>3,5,7</sup> Aproximadamente 70% dos casos de câncer cervical no mundo são causados pelo HPV dos tipos oncogênicos 16 e 18, enquanto o HPV 31, 33, 45 e outros tipos menos comuns são encontradas nos casos restantes.<sup>2</sup>

Não está claramente definido por que a infecção pelo HPV evolui com resolução em alguns indivíduos e resulta em lesões mais graves em outros. Devido ao fato de que a infecção por HPV oncogênico é uma causa necessária, porém não suficiente para o câncer cervical, admite-se que outros fatores, em conjunto com estes vírus, modulem o risco de transição da infecção cervical para a malignidade.<sup>4</sup> Incluem-se entre tais fatores a suscetibilidade individual, estado imunológico e nutricional, hormônios endógenos e exógenos, tabagismo, multiparidade, infecção por outros agentes sexualmente transmitidos, tais como HIV, *Chlamydia trachomatis* e vírus herpes simples tipo 2 (HSV-2), e características virais como tipo de HPV, infecção concomitante por mais de um tipo, carga e integração viral.<sup>4,5</sup>

Por ser o HPV um vírus de larga disseminação mundial e distribuição universal, e por causar doenças graves como neoplasias, é de grande importância clínica e epidemiológica conhecer os fatores associados aos processos de infecção e oncogênese, visando dessa forma contrabalançar as influências dos fatores de risco e prever o impacto das vacinas recentemente desenvolvidas.<sup>2,8,9</sup> As pesquisas de prevalência e epidemiologia do HPV são a chave para a compreensão sobre as amplas variações na incidência de câncer cervical no mundo.

## OBJETIVO

Documentar a prevalência da infecção genital feminina pelo HPV através do estudo de uma amostra aleatória da população feminina sexualmente ativa da cidade de Florianópolis. Os dados obtidos foram correlacionados com possíveis fatores associados com a infecção e suas manifestações, de modo que se buscou delinear o perfil epidemiológico desta infecção na região de Florianópolis.

## MÉTODOS

Trata-se de um estudo observacional, descritivo e transversal realizado no ambulatório de Ginecologia do Hospital Universitário (HU) Prof. Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), nos centros de saúde Trindade e Campeche e em consultório privado, no período de dezembro de 2007 a abril de 2008.

Foram avaliadas amostras de material cérvico-vaginal de 100 mulheres selecionadas ao acaso na oportunidade de sua visita ao serviço de saúde.

Todas as voluntárias leram, discutiram com os pesquisadores e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foram excluídas do estudo pacientes de ambulatórios de pato-

logia cervical e/ou oncologia genital, ou mulheres que tivessem sido submetidas a procedimentos de cauterização de lesões condilomatosas em vulva ou colo uterino recentemente, ou gestantes.

Foram avaliadas as variáveis idade (estratificadas de 5 em 5 anos à partir dos 15 anos), grau de escolaridade (fundamental, médio e superior, sem discriminar se o estudo foi completo ou incompleto), etnia (caucasianas e negras), número de parceiros sexuais que as pacientes tiveram na vida (menos de três, de três a cinco e superior a cinco), idade de início da atividade sexual (até 15 anos, 16 anos a 18 anos, 19 anos a 21 anos e igual ou superior a 22 anos), paridade (nulípara, 1-2, 3-4,  $\geq 5$  partos), história prévia de outras doenças sexualmente transmissíveis (DST), uso de anticoncepcionais hormonais (foram consideradas usuárias as mulheres que usam ou que já usaram anticoncepcionais no passado), e tabagismo (consideradas fumantes as mulheres que fumam ou que já fumaram no passado).

Os dados necessários para a realização deste estudo foram obtidos durante consulta médica das mulheres que procuraram atendimento de rotina em saúde no ambulatório de Ginecologia Geral do HU/UFSC, nos Centros de Saúde da Trindade e do Campeche e em consultório privado. A coleta de dados foi baseada em um protocolo de pesquisa com perguntas objetivas respondido pelas pacientes durante a consulta, bem como a coleta de amostra de material cérvico-vaginal durante o exame ginecológico.

As amostras coletadas foram submetidas a estudo de biologia molecular pelo método de Captura Híbrida II<sup>®</sup> da Digene & Co. pelo mesmo laboratório de Florianópolis (Laboratório DNA-análise) para detecção do DNA-HPV. Este método possui sensibilidade clínica de 1pg/mL, equivalente a 1 cópia de vírus por célula e detecta os tipos virais não oncogênicos (6, 11, 42, 43 e 44) e os de alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 60). O teste foi considerado positivo quando a razão de RLU (unidades de luz relativa) do teste sobre dois controles positivos equivalia a 1pg/mL de DNA-HPV ou mais. De acordo com estudos recentes, esse valor de ponto de corte é o que agrega maior sensibilidade e especificidade ao exame.<sup>10,11</sup>

A análise estatística dos dados foi realizada com o uso dos programas Microsoft Office Excel<sup>®</sup> e Graphpad Instat<sup>®</sup>. Os resultados foram obtidos pelo cálculo de percentuais. Para verificar as possíveis associações entre o diagnóstico da presença do HPV e as variáveis foi realizado o teste do qui-quadrado ( $X^2$ ) e teste exato de Fisher, com intervalo de confiança de 95%. O resultado foi considerado significativo se a probabilidade de erro for  $\leq 5\%$  ( $p < 0,05$ ). Quando o valor de p não mostrou significância, foi apresentado  $p = \text{NS}$ .

Os procedimentos realizados no estudo seguiram os Critérios do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) da UFSC conforme Resolução nº. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS). Este estudo foi aprovado por este comitê em novembro de 2007, sob o número 325/2007.

## RESULTADOS

O DNA-HPV foi encontrada em 21 mulheres participantes do estudo (21%). Destes casos positivos, a infecção mista de HPV de alto e baixo risco foi encontrada em cinco mulheres (24% da amostra). O HPV de alto risco oncogênico foi encontrado em

15 amostras (71%) e o HPV de baixo risco oncogênico em 11 amostras (52%).

A idade das mulheres variou de 15 anos a 54 anos. A faixa etária mais prevalente foi das mulheres acima dos 45 anos (22%) (Tabela 1). Dos casos positivos, 48% ocorreram na faixa etária até os 30 anos, sendo a maior parte em mulheres entre 21 anos e 25 anos (24%) (Figura 1). As mulheres com idade entre 21 anos e 25 anos corresponderam à faixa etária em que se observou a maior prevalência da infecção pelo HPV (38%), seguida pela faixa etária de 36 a 40 anos (36%) (Tabela 1)

A correlação entre o grau de escolaridade e a presença do HPV não mostrou diferença estatisticamente significativa. Entretanto, houve uma prevalência maior nas pacientes com nível médio de ensino (29%), enquanto nas pacientes com mais anos de estudo (nível superior) encontrou-se a menor prevalência (12%) (Tabela 1). Dos casos positivos para o HPV, a maior prevalência foi observada nas mulheres que tinham o ensino médio (57%)

Quanto à etnia, observou-se uma prevalência da infecção por HPV de 30% nas mulheres negras e 20% nas caucasianas, porém não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (Tabela 1)

O comportamento sexual foi avaliado através do número de parceiros e da idade de início da atividade sexual. Quanto ao número de parceiros sexuais na vida, apesar de não ter significância estatística, observou-se uma maior prevalência de DNA-HPV positivo entre as mulheres com mais de cinco parceiros (26%) (Tabela 1). Dos casos positivos, 38% tinham até dois parceiros sexuais.

Quando avaliado separadamente o número de parceiros sexuais entre os grupos de HPV de baixo e de alto risco nota-se que em todas as categorias a prevalência do grupo de alto risco oncogênico foi maior que o de baixo risco, porém, sem significância estatística (Tabela 2).

Quanto à idade do início da atividade sexual, houve uma prevalência maior do HPV, estatisticamente significativa, nas mu-

lheres com início das relações em idade igual ou superior a 22 anos (56%), com a segunda maior prevalência no grupo com idade igual ou inferior a 15 anos (37%) (p=0,016) (Tabela 1). Dos casos positivos, 33% foram em mulheres que iniciaram a sua atividade sexual com idade igual ou inferior a 15 anos.

Quando observada separadamente a distribuição de HPV de alto e baixo risco oncogênico de acordo com a idade de início da atividade sexual, também se encontrou significância estatística quando comparados todos os grupos (p=0,0005), e também quando comparado o grupo de baixo risco em relação aos negativos (p=0,0003) (Tabela 2). Em cinco mulheres foi observada uma associação dos HPV de alto e baixo risco. Nas mulheres com idade superior ou igual a 22 anos, 45% estavam infectadas pelos HPV de baixo risco oncogênico e 18% pelo alto risco (Tabela 2).

Quanto à paridade, observou-se a maior prevalência do vírus nas mulheres com três a quatro partos (28%), seguidas pelas mulheres com cinco ou mais partos (25%), embora não tenha sido estatisticamente significativa. Em um terço dos casos positivos, as mulheres eram nulíparas (Tabela 1).

Na avaliação de história de DST prévia ou atual, encontrou-se apenas uma paciente (5%) com positividade para HPV e outra DST (herpes vírus 2) (Tabela 1).

Não houve diferença estatística quanto a prevalência do HPV entre as usuárias de anticoncepcionais orais (ACO) (22%) e as não usuárias (18%) (Tabela 1).

Ao avaliar separadamente a relação entre o uso de ACO e os grupos virais de baixo e alto risco oncogênico, não houve significância estatística, porém, observou-se maior prevalência de HPV de alto risco oncogênico entre as usuárias de ACO (14% vs. 12%) (Tabela 2).

Em relação à história de tabagismo, as mulheres não tabagistas apresentaram prevalência maior de HPV (23%) que as tabagistas (16%), mas não de forma significativa (Tabela 1).

Também não foi significativa a diferença na avaliação do tabagismo e os grupos virais de alto e baixo risco oncogênico,

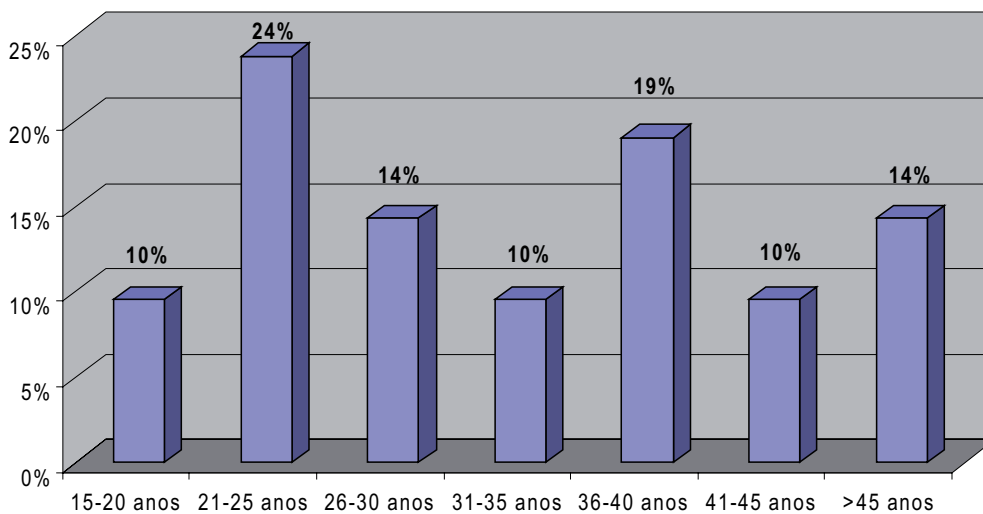


Figura 1. Distribuição percentual por faixa etária dos casos positivos para HPV.

**Tabela 1** – Características gerais e fatores de risco das mulheres

Variável	DNA HPV (+)		DNA HPV (-)		Total		p
	n	%	n	%	n	%	
<b>Idade (anos)</b>							NS
15-20	02	29	05	71	07	07	
21-25	05	38	08	62	13	13	
26-30	03	17	15	83	18	18	
31-35	02	13	13	87	15	15	
36-40	04	36	07	64	11	11	
41-45	02	14	12	86	14	14	
> 45	03	14	19	86	22	22	
<b>Ensino</b>							NS
Fundamental	04	24	13	76	17	17	
Médio	12	29	30	71	42	42	
Superior	05	12	36	88	41	41	
<b>Etnia</b>							NS
NS							
Caucasiana	18	20	72	80	90	90	
Negra	03	30	07	70	10	10	
<b>Número de Parceiros Sexuais</b>							NS
≤ 2	08	19	34	81	42	42	
3-5	08	21	31	79	39	39	
> 5	05	26	14	74	19	19	
<b>Início da Atividade Sexual (anos)</b>							< 0,05
≤ 15	07	37	12	63	19	19	
16-18	08	20	33	80	41	41	
19-21	01	03	30	97	31	31	
≥ 22	05	56	04	44	09	09	
<b>Paridade</b>							NS
0	07	18	32	82	39	39	
1-2	08	21	31	79	39	39	
3-4	05	28	13	72	18	18	
≥ 5	01	25	03	75	04	04	
<b>História de DST</b>							NS
NS							
Sim	01	14	06	86	07	07	
Não	20	22	73	78	93	93	
<b>Uso de Anticoncepcional</b>							NS
Sim	16	22	56	78	72	72	
Não	05	18	23	82	28	28	
<b>Tabagismo</b>							NS
Sim	05	16	26	84	31	31	
Não	16	23	53	77	69	69	
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>21</b>	<b>79</b>	<b>79</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

Obs.: NS: não significativo

apesar de ter havido uma maior prevalência do HPV de alto risco oncogênico (13% vs. 3%) (**Tabela 2**). Nas mulheres infectadas pelo HPV e tabagistas, 80% dos casos foram pelos HPV de alto risco oncogênico. Nas mulheres não tabagistas, a infecção pelo HPV de alto risco oncogênico foi semelhante (72%).

## DISCUSSÃO

Estimativas da prevalência populacional de infecção pelo HPV entre mulheres em todo o mundo variam de 2% a 44%.<sup>5</sup> A ampla

variação nas estimativas é explicada pelas diferenças nas médias de idade das populações estudadas e a sensibilidade do método utilizado para detecção da infecção pelo HPV.<sup>4</sup> Em um estudo de prevalência do HPV no estado de Santa Catarina realizado por Zampirolo *et al.*,<sup>11</sup> no qual se utilizou também a técnica de biologia molecular de Captura Híbrida II® (Digene & Co.), a prevalência de exames positivos para HPV foi 53,8%, dos quais 66,4% foram representados por tipos virais de alto risco oncogênico e 33,6% de baixo risco. Entretanto, estes dados são de exames realizados por um laboratório que recebia o pedido deste exame,



**Tabela 2** – Distribuição dos casos positivos para HPV (alto e baixo risco) de acordo com os fatores de risco

Fatores de Risco	HPV BR		HPV AR		Total		p
	n	%	n	%	n	%	
<b>Número de Parceiros Sexuais</b>							
≤ 2	04	09	06	14	10	38	NS
3-5	04	10	05	13	09	35	
> 5	03	14	04	19	07	27	
<b>Início da Atividade Sexual (anos)</b>							
≤ 15	02	11	05	26	07	27	< 0,05
16-18	03	07	07	16	10	38	
19-21	01	03	01	03	02	08	
≥ 22	05	45	02	18	07	27	
<b>Uso de Anticoncepcional</b>							
Sim	09	12	11	14	20	77	NS
Não	02	07	04	14	06	23	
<b>Tabagismo</b>							
Sim	01	03	04	13	05	19	NS
Não	10	14	11	15	21	81	
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>14</b>	<b>104</b>	<b>100</b>	

Obs.: HPV AR: HPV de alto risco; HPV BR: HPV baixo risco; NS: não significativo

geralmente por suspeita ou acompanhamento de infecção pelo HPV e não da população geral. Em um estudo semelhante no Rio de Janeiro, Carvalho *et al.*<sup>10</sup> encontraram 48,3% de prevalência pela mesma técnica, com 52,7% de HPV de alto risco, 11,8% para HPV de baixo risco e 35,5% para associação de ambos. Vários estudos no mundo têm demonstrado um percentual que varia de 16,6% (Polônia) a 64% (população indígena argentina).<sup>12,13,14</sup> Em nosso estudo, a prevalência da positividade do DNA HPV na população geral feminina foi de 21%, semelhante ao encontrado por Del Prete *et al.*<sup>14</sup> (23,1%) e Kornya *et al.*<sup>13</sup> (17,5%) e de acordo com as variações mundiais.

Observamos 48% das amostras positivas para HPV de alto risco oncogênico, 28% para HPV de baixo risco e 24% para infecção mista. Como encontrado em outros estudos,<sup>10,13</sup> há um predomínio da infecção por tipos oncogênicos de HPV. Quanto à coinfeção por múltiplos tipos virais, Rousseau *et al.*<sup>15</sup> observaram que um quinto das mulheres positivas para HPV em uma mesma visita ao serviço apresentavam positividade para mais de um tipo viral.<sup>16</sup>

A prevalência da infecção HPV é maior em mulheres jovens, com um pico da infecção em mulheres com idade inferior a 25 anos e tende a declinar com o avanço da idade.<sup>16,17</sup> Esse padrão pode ser observado a despeito de atividade sexual. Uma explicação possível para isso seria o desenvolvimento de resposta imunológica adaptativa pelos indivíduos infectados que poderia prevenir a aquisição de uma infecção futura.<sup>16</sup> Porém, alguns estudos em diferentes regiões do mundo evidenciaram queda dos valores da prevalência entre as mulheres com idade entre 35 e 54 anos e um segundo pico após os 55 anos.<sup>16,17</sup> A metanálise de Sanjosé *et al.*<sup>1</sup> mostra este padrão em várias regiões do mundo, incluindo as Américas, Europa e África. A razão para este segundo pico ainda não está clara. As possíveis explicações envolvem a reativação de uma infecção latente (com carga viral abaixo do nível detectável)

devido a perda gradual de imunidade tipo-específica ou a mudanças dos padrões de comportamento sexual nas últimas décadas (tanto do homem quanto da mulher), com aquisição de novas infecções.<sup>16</sup>

Carvalho *et al.*<sup>10</sup> e Del Prete *et al.*<sup>14</sup> encontraram a maior prevalência nas mulheres entre 20 anos e 30 anos (45,7% e 32,6%, respectivamente), enquanto Dunne *et al.*<sup>12</sup> e Selors *et al.*<sup>18</sup> observaram as mais altas taxas na faixa etária de 20 anos a 24 anos (44,8% e 24%, respectivamente). Nesses estudos não foi observado um segundo pico de prevalência com a idade avançada. A maior prevalência encontrada em nosso grupo foi em mulheres com idade entre 21 anos e 25 anos (38%), de acordo com o esperado, seguida pelo grupo de mulheres entre 36 anos e 40 anos (36%). Diferentemente do que é encontrado na maioria dos estudos, observamos um segundo pico nas mulheres entre 36 anos e 40 anos. Por tratar-se de estudo seccional, não se pode saber se a alta prevalência entre as mulheres de 36 anos a 40 anos deve-se à persistência de uma infecção adquirida mais cedo na vida ou a uma nova infecção. Naucler *et al.*<sup>19</sup> consideram que a maior especificidade do teste de DNA-HPV ocorre em mulheres com mais de 35 anos, pois embora a prevalência tenha seu pico nas mulheres em torno de 20 anos de idade, esta infecção é geralmente transitória neste período e o desenvolvimento carcinogênico resulta da infecção HPV persistente com replicação viral sustentada no epitélio escamoso, apresentando um pico de incidência do câncer cervical por volta dos 40 anos de idade.

Vários fatores sócio-demográficos e comportamentais são classicamente descritos como fatores de risco para o câncer de colo uterino. Diversos autores apontam risco aumentado para lesões cervicais em mulheres com menor escolaridade.<sup>20,21</sup> Kornya *et al.*<sup>13</sup> encontraram maior prevalência da infecção HPV nas mulheres com menor escolaridade. Em nosso estudo observamos, no entanto, uma maior prevalência desta infecção nas

mulheres com ensino médio (29%). Entretanto, Adam *et al.*<sup>21</sup> não encontraram associação entre o nível de educação e a infecção pelo HPV. Estes achados demonstram a dificuldade de se analisar um dado isolado, uma vez que provavelmente há uma associação com outros fatores de risco.

Outro parâmetro sócio-demográfico avaliado foi a etnia. Shields *et al.*<sup>22</sup> observaram aumento do risco da infecção HPV em mulheres negras e hispânicas, atribuindo isso a uma característica socioeconômica e não genética. O risco de desenvolvimento de câncer cervical nessas mulheres, entretanto, é menor do que nas de etnia caucasiana.<sup>20,22</sup> Em nossa amostra, encontramos apenas mulheres brancas e negras. Ainda assim, 90% da amostra foi composta por mulheres brancas. Das 21 mulheres positivas para o DNA-HPV, três eram negras (15%) e 18 caucasianas (85%). Apesar de a positividade do DNA-HPV entre todas as mulheres participantes do estudo ter sido de 20% para as caucasianas e 30% para as negras, este resultado não foi estatisticamente significativo.

Para Baseman & Koutsky,<sup>17</sup> o fator de risco mais consistente para a infecção pelo HPV é o alto número de parceiros sexuais. A relação entre o número de parceiros sexuais e o risco de infecção pelo HPV é constatada em diversos estudos.<sup>13,20</sup> Ho *et al.*<sup>23</sup> demonstraram que as mulheres que tiveram quatro ou mais parceiros, num período de 6 meses, apresentaram um risco quase quatro vezes maior de adquirir o HPV oncogênico quando comparadas às mulheres com três parceiros ou menos. Nossa prevalência da infecção HPV aumentou com o número crescente de parceiros sexuais, entretanto sem significância estatística. Quando analisados separadamente os grupos de HPV de alto e baixo risco oncogênico, a prevalência do HPV de alto risco foi sempre maior que a de baixo risco, tanto nas mulheres com poucos quanto naquelas com número aumentado de parceiros sexuais, embora não estatisticamente significativo.

Parece também haver uma relação entre o início precoce da atividade sexual e um maior risco de aquisição da infecção HPV, possivelmente pelo aumento do tempo de exposição ao vírus.<sup>4,24</sup> Em nosso estudo, porém, a maior prevalência foi encontrada entre as mulheres que iniciaram mais tardiamente a atividade sexual, com mais de 21 anos de idade (56%). Analisando separadamente os grupos de HPV, evidenciou-se maior prevalência do grupo de alto risco entre as pacientes com início da atividade sexual abaixo dos 16 anos e de baixo risco entre as pacientes com início após os 21 anos.

Vários trabalhos relacionam a multiparidade e o risco de infecção pelo HPV e para o câncer invasor do colo uterino.<sup>4,21</sup> Adam *et al.*<sup>21</sup> demonstraram que mulheres com três ou mais gestações foram consideradas de risco para a infecção HPV. Quanto ao câncer cervical, Castellsagué & Muñoz<sup>25</sup> observaram um aumento do risco de câncer cervical em mulheres com maior número de gestações completas após ajuste para a idade de início da atividade sexual e o número de parceiros sexuais. A explicação para tal resultado seria o fato de que com múltiplas gestações o epitélio de transição do ectocérvice é mantido por muitos anos, ficando mais exposto ao vírus.<sup>25,26</sup> Apesar de não ser estatisticamente significativo, observamos uma prevalência aumentada da infecção HPV em mulheres com três ou mais gestações completas (28%).

A infecção HPV associada a outros agentes transmitidos sexualmente, tais como *Chlamydia trachomatis* e o herpes simples 2 têm sido relacionada ao desenvolvimento do câncer cervical.<sup>4</sup> Estudos caso-controle demonstraram aumento do risco de duas a seis vezes para o desenvolvimento de carcinoma cervical em mulheres positivas para clamídia e um aumento significativo para as com infecção herpética. Em um estudo prospectivo com mulheres brasileiras, Cavalcanti *et al.*<sup>27</sup> relataram importante contribuição das DST no desenvolvimento de lesão cervical, sugerindo que poderiam atuar como cofatores na ativação dos mecanismos de transformação celular ou na diminuição da imunidade local do trato genital, principalmente a *Chlamydia trachomatis* e a *Neisseria gonorrhoeae*. Assim como em nosso estudo, Defaux *et al.*<sup>28</sup> não encontraram relação significativa entre maior risco de HPV e outras DST.

Há ainda muita controvérsia na relação entre o uso de anti-concepcional oral e a infecção HPV. Este vírus é responsivo *in vitro* ao uso de esteroides, e estes interferem estimulando a atividade transformadora dos oncogenes virais.<sup>29</sup> Castellsagué & Muñoz<sup>25</sup> descreveram aumento do risco de câncer de colo do útero com um tempo prolongado de uso de anticoncepcionais orais, ressaltando que este risco é duas vezes maior em mulheres que fazem uso desses medicamentos por mais de 10 anos. Shields *et al.*,<sup>22</sup> no entanto, observaram o contrário: mulheres em uso de ACO apresentaram menores riscos de câncer cervical. Em relação à infecção HPV, nossos resultados não demonstraram relação entre o uso de ACO e maior risco da infecção. Na análise separada dos grupos virais, de alto e baixo risco oncogênico, não houve diferença de grupo viral e o uso ou não de ACO.

O tabagismo é considerado um dos mais importantes fatores de risco para o câncer cervical.<sup>4,17,26,27,28</sup> De acordo com Geller *et al.*<sup>29</sup> isso se deve a vários mecanismos: presença de metabólitos carcinogênicos do tabaco nas secreções cervicais, imunossupressão levando à persistência viral e dano genômico à célula por genotoxinas. Em estudos brasileiros, Cavalcanti *et al.*<sup>27</sup> e Naud *et al.*<sup>24</sup> também observaram que as mulheres fumantes apresentaram maior risco de desenvolvimento de câncer cervical. Naud *et al.*<sup>24</sup> observaram que uma carga tabágica de no mínimo 100 cigarros na vida já é um forte preditor de positividade para o HPV. Shields *et al.*,<sup>22</sup> no entanto, não verificaram relação entre o hábito de fumar e a soropositividade para HPV. Em nosso estudo, a prevalência de DNA-HPV foi maior nas mulheres não tabagistas (23%) quando comparadas às tabagistas (16%), mas sem associação estatística. Observamos, no entanto, que entre as tabagistas positivas para o HPV, a prevalência do grupo de alto risco oncogênico foi cerca de quatro vezes maior que para os tipos de baixo risco.

A expectativa para o Brasil é que o número de novos casos de câncer cervical aumente de cerca de 20.000/ano para aproximadamente 36.800 no ano de 2030.<sup>30</sup> Além disso, a infecção HPV com suas manifestações clínicas variadas é considerada atualmente a mais prevalente das DST. Diante deste quadro, não há dúvidas de que as estratégias de prevenção e rastreamento da infecção HPV requerem maior atenção e investimento. Até o momento, as medidas de prevenção secundária para o câncer genital como a colpocitologia oncótica, genitoscopia, detecção

do DNA HPV, tratamento das lesões pré-cancerosas, entre outras, são as mais utilizadas no mundo inteiro.<sup>19,31</sup> Nos últimos anos, estudos têm demonstrado que parece promissora a prevenção primária, através do uso das vacinas. As vacinas anti-HPV recentemente desenvolvidas apresentam uma proteção contra os HPV mais prevalentes, tanto para os de baixo risco oncogênico (6 e 11, que são responsáveis por mais de 90% dos casos de verrugas anogenitais) quanto para os de alto risco (16 e 18, responsáveis por 70% dos casos de câncer cervical).<sup>2,8,9</sup> Estes estudos de prevalência da infecção HPV são importantes para mapear o verdadeiro cenário em nosso país e novos estudos em outras regiões do Brasil serão importantes para se avaliar em que regiões é mais urgente o incremento da prevenção da infecção HPV.

## CONCLUSÃO

A prevalência de HPV na população estudada foi de 21%, com 71% para vírus de alto risco e 52% para vírus de baixo risco oncogênico, incluindo infecções mistas. A detecção do vírus de alto risco foi associada ao início precoce de atividade sexual.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 453-459.
- Garland SM, Avila MH, Wheeler CM, Perez G, Harper DM, Leodolter S, et al. Quadrivalent vaccine against Human Papillomavirus to prevent anogenital disease. *N Engl J Med* 2007; 356: 1928-1943.
- Carvalho JLL, Oyakawa N. I Consenso Brasileiro de HPV. 1ª ed. São Paulo: BG Cultural; 2000.
- Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus Res* 2002; 89(2): 191-199.
- Franco ED, Steben M. Human papillomavirus infection: epidemiology and pathophysiology. *Gynecol Oncol* 2007; 107: S2-S5.
- Meijer CJLM, Snijders PJF, van der Brule AJC. Screening for cervical cancer: should we test for high-risk HPV? *CMAJ* 2000; 163(5): 535-538.
- Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of Human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348(6): 518-527.
- Ault KA; Future II Study group. Effect of prophylactic Human papillomavirus L1 virus-like-particle vaccine on risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2, grade 3, and adenocarcinoma in situ: a combined analysis of four randomized clinical trials. *Lancet* 2007; 369: 1861-1868.
- Joura EA, Leodolter S, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, Perez G, Koutsky LA, et al. Efficacy of a quadrivalent prophylactic Human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like-particle vaccine against high-grade vulval and vaginal lesions: a combined analysis of three randomized clinical trials. *Lancet* 2007; 369: 1693-1702.
- Carvalho MO, Almeida RW, Leite FM, Fellows IB, Teixeira MH, Oliveira LH, et al. Detection of Human papillomavirus DNA by the hybrid capture assay. *Braz J Infect Dis* 2003; 7(2): 121-125.
- Zampirolo JA, Merlin JC, Menezes ME. Prevalência de HPV de baixo e alto risco pela técnica de biologia molecular (Captura Híbrida II®) em Santa Catarina. *Rev Bras Anal Clin* 2007; 39(4): 265-268.
- Dunne EF, Unger ER, Stemberg M, McQuillan G, Swan DC, Patel SS. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA* 2007; 297(8): 813-819.
- Kornya L, Cseh I, Deak J, Bak M, Fulop V. The diagnostics and prevalence of genital Human papillomavirus (HPV) infection in Hungary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 100(2): 231-236.
- Del Prete R, Di Taranto AM, Lipsi MR, Nirchio V, Antonetti R, Miragliotta G. Prevalence and genotypes identification of Human papillomavirus infection in a population of South Italy. *J Clin Virol* 2008; 42(2):211-4.
- Rousseau MC, Pereira JS, Prado JC, Villa LL, Rohan TE, Franco ED. Cervical coinfection with Human papillomavirus (HPV) types as a predictor of acquisition and persistence of HPV infection. *J Infect Dis* 2001; 184(12): 1508-1517.
- Trottier H, Franco EL. The Epidemiology of genital Human papillomavirus infection. *Vaccine* 2006; 24 Suppl 1: S1-S15.
- Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of Human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 2005; 32 Suppl 1: S16-S24.
- Sellers JW, Mahony JB, Kaczorowski J, Lytwyn A, Bangura H, Chong S, et al. Prevalence and predictors of Human papillomavirus infection in women in Ontario, Canada. *CMAJ* 2000; 163(5): 503-508.
- Naucler P, Ryd W, Törnberg S, Strand A, Wadell G, Elfgrén K, Rådborg T, et al. Human papillomavirus and Papanicolaou tests to screen for cervical cancer. *N Engl J Med* 2007; 357: 1589-1597.
- Khan MJ, Partridge EE, Wang SS, Schiffman M. Socioeconomic status and the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 among oncogenic Human papillomavirus DNA-positive women with equivocal or mildly abnormal cytology. *Cancer* 2005; 104(1): 61-70.
- Adam E, Berkova Z, Daxnerova Z, Icenoglu J, Reeves WC, Kaufman RH. Papillomavirus detection: demographic and behavioral characteristics influencing the identification of cervical disease. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182(2): 257-264.
- Shields TS, Brinton LA, Burk RD, Wang SS, Weinstein SJ, Ziegler RG, et al. A Case-control study of risk factors for invasive cervical cancer among U.S. women exposed to oncogenic types of Human papillomavirus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13(10): 1574-1582.
- Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998; 338(7): 423-428.
- Naud P, Matos J, Hammes L, Stuckzynski J, Brouwers K, Magno V, et al. Factors predicting intermediate endpoints of cervical cancer and exposure to Human papillomavirus (HPV) infections in young women screened as potential targets for prophylactic HPV vaccination in south of Brazil. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006; 124: 110-118.
- Castellsagué X, Muñoz N. Cofactors in Human papillomavirus carcinogenesis: role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; (31): 20-28.
- Muñoz N, Castellsagué X, González AB, Gissmann L. HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine* 2006; 24S3: S1-S10.
- Cavalcanti SM, Zardo LG, Passos MR, Oliveira LH. Epidemiological aspects of Human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil. *J Infect* 2000; 40(1): 80-87.
- Defaux AB, Bourgoin A, Ragot S, Battandier D, Lemasson JM, Renaud O, et al. Human papillomavirus infection of the cervix uteri in women attending a Health Examination Center of the French social security. *J Med Virol* 2004; 73(2): 262-268.
- Geller M, Aboim E, Campos CD. Papilomavírus humano – fatores de risco, carcinogênese, resposta imune e tratamento. *J Bras Med* 2008; 94(3): 43-46.
- Goldie SJ, Kim JJ, Kobus K, Goldhaber-Fiebert JD, Salomon J, O'Shea MKH, et al. Cost-effectiveness of HPV 16, 18 vaccination in Brazil. *Vaccine* 2007; 25:6257-6270.
- Mayrand MH, Franco ED, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A, et al, for the Canadian Cervical Cancer Screening Trial Study Group. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med* 2007; 357: 1579-1588.

### Endereço para correspondência:

**EDISON NATAL FEDRIZZI**

Centro de Pesquisa Clínica Projeto HPV  
Hospital Universitário – Universidade Federal de Santa Catarina  
Campus Universitário – Bairro Trindade  
CEP: 88040-970 – Florianópolis, SC.  
Fone: 48 3721-9082 / Fax: 48 3233-6798  
E-mail: enfedrizzi@uol.com.br

Recebido em: 29/08/2008

Aprovado em: 17/10/2008

# ASPECTOS ESTRUTURAIS DA FAMÍLIA DE UMA GESTANTE COM PAPILOMAVÍRUS HUMANO

## *STRUCTURAL ASPECTS OF THE FAMILY OF A PREGNANT WOMAN WITH HUMAN PAPILLOMAVIRUS*

Ana Débora A Moura<sup>1</sup>, Mirella TJ Nogueira<sup>1</sup>, Saiwori JS Bezerra<sup>1</sup>, Ana Karina B Pinheiro<sup>2</sup>, Maria Grasiela T Barroso<sup>3</sup>

### RESUMO

**Introdução:** família pode ter muitas atribuições, como a consanguinidade, o parentesco e a afinidade através do casamento. Vários fatores influenciam na sua estrutura, gerando crises, incluindo-se fatores sociopolíticos e econômicos, religiosos e culturais, tais como a violência, o desemprego, as doenças, dentre outros. **Objetivo:** avaliar aspectos estruturais de uma família com portadora do papilomavírus humano (HPV) assistida em um serviço de saúde, com base no modelo Calgary. **Métodos:** estudo do tipo exploratório-descritivo, com abordagem qualitativa, sendo utilizado como referencial teórico o Modelo Calgary de Avaliação de Famílias. O sujeito da pesquisa foi uma mulher gestante e portadora de lesão por HPV, acompanhada em um Centro de Atenção Secundária na abordagem às doenças sexualmente transmissíveis (DST) do município de Fortaleza – CE. A coleta de dados foi realizada em janeiro de 2007 através de entrevistas, utilizando como instrumento um roteiro semiestruturado. As falas foram transcritas com consequente realização de discussões e analisadas com embasamento na literatura pertinente, apresentadas através de genograma, ecomapa e depoimentos da família. **Resultados:** percebemos, nesse estudo, que a doença não interferiu na relação conjugal, nem afetou o desenvolvimento da família nuclear (o casal); que a gestante apresenta um forte vínculo com sua família extensa e que a família nuclear é um sistema familiar fechado, com pouca interação social. **Conclusão:** apesar de o casal relatar que não houve grandes repercussões com a descoberta do HPV, emergiram os sentimentos de vergonha e medo de rejeição, comprovando a existência de estigmas associados às DST.

**Palavras-chave:** família, mulher, papilomavírus humano, DST

### ABSTRACT

**Introduction:** family can have many definitions as the consanguinity, the kinship and the affinity through marriage. Several factors influence its structure causing crisis, which include socio-political and economical, religious and cultural factors, such as violence, unemployment, diseases etc. **Objective:** to evaluate structural aspects of one family with carrier of Human Papillomavirus (HPV) assisted in a health service, based on the Calgary Model. **Methods:** descriptive exploratory study, with qualitative approach, using Calgary Model of family evaluation as theoretical reference. The subject of the research was a pregnant woman who had a lesion by HPV, assisted in a Centre of Secondary Attention in the approach to Sexually Transmitted Diseases (STD) from Fortaleza – CE. The data collection occurred in January, 2007, through interviews and the instrument used was a semi-structured schedule. The speeches were transcribed with consequent execution of discussions and analyzed based on the pertinent literature, and presented through Genogram, Ecomap and family testimony. **Results:** in this study, we noticed that the disease did not interfere in the matrimonial relationship and in the development of the nuclear family (the couple); the pregnant presents a strong link with her extended family and the nuclear family has a closed family system, with little social interaction. **Conclusion:** Although the couple relates that there were no great repercussions with the discovery of HPV, the feeling of embarrassment, and fear of being rejected emerged, which confirm the existence of stigmas associated to STD.

**Keywords:** family, woman, Human Papillomavirus, STD

## INTRODUÇÃO

Constituída com base nas relações de parentesco cultural e historicamente determinadas, a família inclui-se entre as instituições sociais básicas, elemento-chave para a sobrevivência dos indivíduos, proteção, socialização de seus componentes, transmissão do capital cultural, do capital econômico e da propriedade do grupo, bem como das relações de gênero e de solidariedade entre gerações<sup>1</sup>.

É na família que o ser humano cresce e constrói seus valores, que mantém relações mais íntimas e constitutivas da identidade pessoal para, posteriormente, interagir socialmente como um ser único, moldando, a partir das interações sociais, sua personalidade e firmando seus valores e crenças continuamente.

As relações que configuram uma família são a aliança (casal), filiação (pais e filhos) e consanguinidade (irmãos). Porém, costuma-se incluir como fazendo parte da família uma pessoa que

conviva na mesma casa, mesmo que não mantenha parentesco, e, para algumas, até mesmo o animal de estimação<sup>2</sup>.

Estes aspectos conotam as mudanças que vêm ocorrendo na estrutura familiar, que é composta por três formas básicas: a nuclear (conjugal), a extensa (consanguínea) e a abrangente. A primeira se refere ao tripé *pai-mãe-filhos*; a extensa inclui também outros membros que possuam quaisquer laços de parentesco; a abrangente é aquela que inclui até os não parentes, mas que coabitem na mesma residência<sup>2</sup>.

Dos fatores que influem na estrutura familiar, incluem-se os sociopolíticos e econômicos, os religiosos e culturais. Fatores como a violência, o consumo de drogas, o desemprego, a miséria, a doença permeiam muitas famílias, influenciando em sua estrutura e manutenção e gerando crise nas famílias.

Mesmo que alguns fenômenos da modernidade venham questionando o futuro da família, suas responsabilidades e suas funções sociais não parecem ter perdido a relevância. Percebe-se que essas funções e responsabilidades seriam particularmente demandadas nas situações de adversidade.

Somado aos fatores descritos, a família é frequentemente acometida por doenças em um ou vários de seus membros, requerendo dos que se encontram saudáveis cuidados especiais, atenção diferenciada. O papel da família como cuidadora em situações de

<sup>1</sup>Enfermeira, Mestre em Enfermagem em Saúde Comunitária pelo Departamento de Enfermagem da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará (DENF/FFOE/UFC).

<sup>2</sup>Enfermeira, Professora Adjunta do Curso de Graduação e Pós-Graduação em Enfermagem do DENF/FFOE/UFC.

<sup>3</sup>Enfermeira, Professora Emérita. Docente Livre do DENF/FFOE/UFC.

saúde/doença é diferente e complementado pelos serviços prestados pelo profissional de saúde.

O cuidador familiar é definido a partir dos significados de crenças e valores de cada família<sup>3</sup>. Quando um membro de uma família está com um problema de saúde, o cuidado deve-se estender à família como um todo. Família é quem seus membros dizem que são, ou seja, quem a família considera como família<sup>4</sup>.

Dentre as regiões brasileiras, o Nordeste possui as mais negativas taxas de indicadores sociais, abrigando 56,53% da população pobre, sendo considerada a localidade de maior desigualdade socioeconômica do país. Nessa extensão brasileira, frequentemente, o tamanho das famílias pobres é maior, e a maioria dos chefes de família é analfabeta<sup>5</sup>.

Estas condições contribuem para a precária qualidade de vida do contingente populacional afetado e para os altos índices de doenças, dentre as quais a tuberculose, a hanseníase, as doenças nutricionais e do metabolismo, as transmitidas por vetores, as doenças sexualmente transmitidas (DST) que se constituem problemas relevantes da saúde pública pela repercussão no processo de saúde-doença e pelas altas taxas de mortalidade que causam.

Dentre as DST, destaca-se no cenário internacional o HPV, uma infecção de transmissão sexual, vírus da família *Papillomaviridae*, caracterizado pela habilidade de transformar a célula epitelial infectada, capaz de provocar lesões de pele ou mucosa. Conhecidas desde a antiguidade, as infecções genitais pelo HPV chamaram a atenção a partir da década de 1970 e 1980, quando surgiram as primeiras evidências da provável associação dessas lesões com o câncer de colo uterino<sup>6</sup>.

O HPV apresenta infectividade que varia de 25 a 65%. As taxas de incidência de infecção para o HPV alcançam cerca de 30%-40% em pacientes com menos de 20 anos; após os 35 anos, essa prevalência diminui para cerca de 10%, e a infecção pelo HPV de alto risco (oncogênico), para cerca de 5%. Enquanto a infecção pelo HPV diminui com a idade, a incidência do câncer cervical aumenta, o que nos sugere que a prevalência da infecção pelo HPV é necessária para produzir lesões de alto grau. O pico de incidência do câncer de colo uterino ocorre 5 a 10 anos após a infecção pelo HPV. Pode-se deduzir que não existe câncer de colo de útero sem infecção pelo HPV, pois em mais de 97% dos casos, o HPV oncogênico está presente<sup>7</sup>.

A presença de alguns tipos de HPV realmente é encontrada na maioria dos casos de câncer, mas existem inúmeros tipos de HPV com baixo potencial de oncogenicidade, e o desenvolvimento ou não das lesões precursoras – lesões intraepiteliais Cervicais – LIE – depende de vários outros fatores relacionados ao hospedeiro<sup>8</sup>.

Um estudo acompanhado por 12 anos mostrou que mais de 65% das infecções em mulheres regridem espontaneamente e 14% progridem para lesões displásicas. A doença caracteriza-se pela recorrência elevada, e até 45% dos doentes tratados podem manter o vírus latente<sup>9</sup>.

O HPV surgiu como o principal suspeito a ser encontrado nos cânceres cervicais por possuir oncogenes com potencial de transformação. O mecanismo pelo qual os tipos de HPV transformam as células ainda não é completamente compreendido. Os dois subtipos mais frequentemente encontrados são o HPV 16 e o

18. Acredita-se que possivelmente diferentes mecanismos sejam utilizados pelos diferentes subtipos para induzir transformação neoplásica<sup>10</sup>.

Dentre as mulheres sexualmente ativas, 10% a 40%, principalmente as mais jovens, são infectadas por um ou mais tipos de HPV. Porém, são infecções transitórias, as quais, na maioria das vezes, o sistema imune consegue combater de maneira eficiente, alcançando a cura, com eliminação completa do vírus, principalmente entre as pessoas mais jovens. Qualquer pessoa infectada pelo HPV desenvolve anticorpos que poderão ser detectados no organismo, mas nem sempre estes são suficientemente competentes para eliminarem os vírus<sup>6</sup>.

A história natural da doença mostrou que a citologia cervical sem displasia e a NIC I, ou leve, têm comportamento similar, sendo que a maioria mostra regressão. Entretanto, a persistência da infecção pelo HPV pode provocar o desenvolvimento de NIC III, a lesão precursora para o câncer. Estima-se que o tempo de infecção até o surgimento da NIC III oscile entre 1 a 10 anos<sup>11</sup>. Segundo os mesmos autores, esse fato leva a propor duas formas de prevenção: com rastreamento das lesões precursoras ou com imunização contra o HPV.

Tal infecção só poderia ser efetivamente evitada com abstinência sexual completa, pois mesmo o uso adequado do preservativo não protege totalmente a pessoa do risco de infectar-se. Logo, a prevenção primária das doenças relacionadas ao vírus seria viável se disponível sob a forma de vacinação.

Na década passada, iniciaram-se os testes clínicos com várias vacinas que tinham alvo os tipos comuns do HPV, e estas foram classificadas como profiláticas ou terapêuticas. As profiláticas evitam a infecção pelo HPV e as doenças a ela associadas, já as terapêuticas induzem a regressão das lesões pré-cancerosas e remissão do câncer invasivo. As vacinas vêm-se mostrando mais efetivas quando administradas antes do início da atividade sexual e as campanhas de vacinação deverão ter como alvo os adolescentes e pré-adolescentes. Espera-se com o uso disseminado da vacina que 70% dos cânceres cervicais sejam evitados, bem como a mesma proporção das outras doenças anogenitais associadas à infecção pelo HPV<sup>12</sup>.

Por sua relação com o câncer cérvico-uterino, o HPV provoca muito medo às suas portadoras, que na maioria das vezes só descobrem a doença ocasionalmente, quando fazem o exame de Papanicolaou, sendo que a não realização anual do exame dificulta ainda mais o diagnóstico precoce da doença. Dessa forma, muitas mulheres podem ser portadoras assintomáticas e estarem transmitindo o HPV, assim como outros microrganismos causadores de diferentes DST.

Enquanto profissionais de saúde, pudemos perceber como essa doença, tão comum à população feminina, assusta essas mulheres. A maioria nunca ouviu falar sobre o que é o HPV, sua transmissão, sintomas, consequências e tratamento, até receberem o diagnóstico de portadoras. A desinformação causa transtornos, não só para a mulher como para sua família, pois o diagnóstico chega cercado de medos e dúvidas, com um tratamento muitas vezes demorado e desconfortável. A sua associação com o câncer de colo uterino deve ser repassada para a mulher, mesmo que essa informação aflija ainda mais a paciente.

A enfermagem vem ampliando seus estudos na área da família, não somente no que diz respeito a ações de assistência direcionadas a esse grupo como também no sentido de conhecer sua dinâmica, seus sistemas e subsistemas e as relações intrafamiliares, pois o conhecimento do contexto saúde-doença, social, econômico e político é ponto relevante para quem deseja promover a saúde das famílias<sup>13</sup>.

Considerando a família como um sistema, deve-se ainda compreender as relações e inter-relações de seus membros e destes com a sociedade, bem como conhecer os fatores que influenciam na dinâmica familiar (étnicos, culturais, socioeconômicos) e nas ações de saúde.

Nessa perspectiva, propomos a utilização de um modelo de avaliação de famílias que permita o melhor conhecimento da mesma em nível estrutural, de desenvolvimento e funcional.

O referencial proposto é o Modelo Calgary de Avaliação da Família (MCAF), definido como uma estrutura multidimensional, integrada, baseada em sistemas, cibernética, comunicação e fundamentação teórica de mudança<sup>4</sup>.

Optamos pelo uso desse modelo, por considerá-lo adequado para a avaliação da família em realidades diversas, sendo possível a sua aplicação em vários contextos e estruturas familiares, proporcionando um meio eficiente de conhecer a família no seu modo de viver e experienciar o processo saúde-doença.

Tudo isso nos fez despertar o interesse de estudar e conhecer, após o diagnóstico da doença, a realidade de uma mulher que têm essa patologia, seus conhecimentos, seus medos, sua vida e sua relação com a família. Conhecer a realidade na qual a família está inserida facilita a sensibilização das famílias sobre questões de saúde, principalmente no que diz respeito à educação em saúde e à introdução de hábitos de vida favoráveis à saúde e ao bem-estar coletivo.

## OBJETIVO

Avaliar aspectos estruturais de uma família com gestante portadora do papilomavírus humano assistida em um serviço de saúde, com base no modelo Calgary.

## MÉTODOS

Trata-se de um estudo do tipo exploratório-descritivo, junto a uma família de gestante portadora de lesão por papilomavírus humano.

Escolhemos a abordagem qualitativa por favorecer a avaliação da estrutura, o desenvolvimento e a dinâmica da família estudada, utilizando como referencial teórico o Modelo Calgary de Avaliação de Família<sup>4</sup>. Procuramos conhecer e analisar a realidade desta família.

A pesquisa qualitativa aponta que os conhecimentos sobre os indivíduos somente são possíveis com a descrição da experiência humana, tal como ela é vivida e definida por seus próprios atores<sup>14</sup>.

O cenário onde a pesquisa se constituiu foi um Centro de Atenção Secundária na abordagem às DST do município de Fortaleza, no qual a mulher portadora de lesão por HPV fez tratamento.

Para a seleção do sujeito do estudo, utilizamos como critérios de inclusão: ser mulher; ser portadora de lesão por HPV; estar ges-

tante, pois a gestação associada ao tratamento de uma DST poderia interferir ainda mais na estrutura da família; ser maior de 18 anos; concordar espontaneamente em participar da pesquisa. Posteriormente, verificamos, através dos prontuários das mulheres, quantas gestantes realizavam esse tratamento no referido serviço de saúde, nos quais foram detectadas três gestantes.

Inicialmente, pensamos em realizar o estudo com as três mulheres, mas essa alternativa foi logo descartada, pelo difícil acesso a tais pacientes. Portanto, apenas uma gestante foi selecionada para o estudo.

Realizamos o primeiro contato no próprio serviço de saúde, num dia de consulta de pré-natal da mulher. Apresentamo-nos como pesquisadoras, assim como foi esclarecido o objetivo da pesquisa; após a aceitação da mesma, solicitamos a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Ainda neste primeiro contato, questionamos sobre o agendamento das visitas domiciliares, mas a gestante não concordou, pois sua família não tinha conhecimento da sua condição de saúde, nem da realização do tratamento, apenas seu companheiro; dessa forma, todos os contatos necessários com a mulher deveriam ser realizados no próprio serviço de saúde.

A gestante solicitou que o companheiro a acompanhasse durante a entrevista, pois se sentiria mais à vontade e segura; após a sua solicitação, o marido concordou em assistir à entrevista. Não podemos garantir que a presença do marido não tenha interferido em alguma resposta da mulher, mas foi uma condição que ela colocou para que participasse do estudo. A fim de que fosse respeitada a identidade dos participantes, oferecemos nomes fictícios.

Foi aplicada entrevista semiestruturada, que proporcionou a compreensão da estrutura e do desenvolvimento da família de uma gestante portadora de HPV, em janeiro de 2007. A entrevista constituiu-se de tópicos norteadores baseados no diagrama ramificado do Modelo Calgary de Avaliação da Família. A gestante não concordou que gravássemos a entrevista, justificando o não conhecimento pelas outras pessoas (familiares e amigos) da sua condição de portadora do HPV.

Ao terminarmos a entrevista, transcrevemos as falas e realizamos o processo de discussões das mesmas, avaliando o que mudou diante do problema de saúde em questão e da família de gestante com HPV.

Apresentamos os dados através de genograma, ecomapa e depoimentos pertinentes da família.

Este estudo é parte integrante do projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará (COMEPE) sob o título “Mulher acometida pelo papilomavírus humano e repercussões na família”.

## RESULTADOS

### Avaliação Estrutural

A avaliação familiar concentra-se mais na interação dos membros que dela participam do que nos indivíduos, apesar de ser composta por eles. Ao fazermos a avaliação desta família, examinamos sua estrutura, isto é, os membros integrantes, o vínculo afetivo entre os membros em comparação com os indivíduos de fora e o contexto no qual ela vive.

Percebemos que Maria é uma jovem tímida, apresentou-se retraída com a nossa presença e receosa em participar da entrevista, pois, como ela mesma refere, posteriormente, as outras pessoas da casa não sabem da sua condição de saúde, e ela e seu marido têm receio de que os outros descubram.

Utilizamos dois instrumentos propostos pelo Modelo Calgary de Avaliação da Família para determinar a estrutura da família em questão: o genograma e o ecomapa.

O genograma apresenta por meio de diagrama todo grupo familiar. Na **Figura 1**, exibimos o genograma da família de Maria e João, permanecendo circulada a família nuclear, ou seja, quem a informante do estudo considerou como família. Verificamos que a família era composta por Maria (24 anos), seu companheiro João (27 anos), a sogra de Maria (60 anos), e três irmãos de João, todos separados conjugalmente, com seus respectivos filhos. Todos residiam em uma casa de sete cômodos no município de Fortaleza - CE.

A casa tem três quartos; como eles são o único casal do lar, possuem um quarto reservado, que futuramente também será do bebê.

A família pode ser definida como um grupo de pessoas ligadas por um forte vínculo emocional, com o sentimento de posse e a liberdade de participar uns da vida dos outros. Os critérios de consanguinidade, adoção e matrimônio também são utilizados<sup>4</sup>.

A família pode ainda ser dividida em subsistemas, como marido-mulher, mãe-filhos, pai-filhos, podendo ser delineados por gerações, sexo, interesse, função ou história<sup>4</sup>. Percebemos

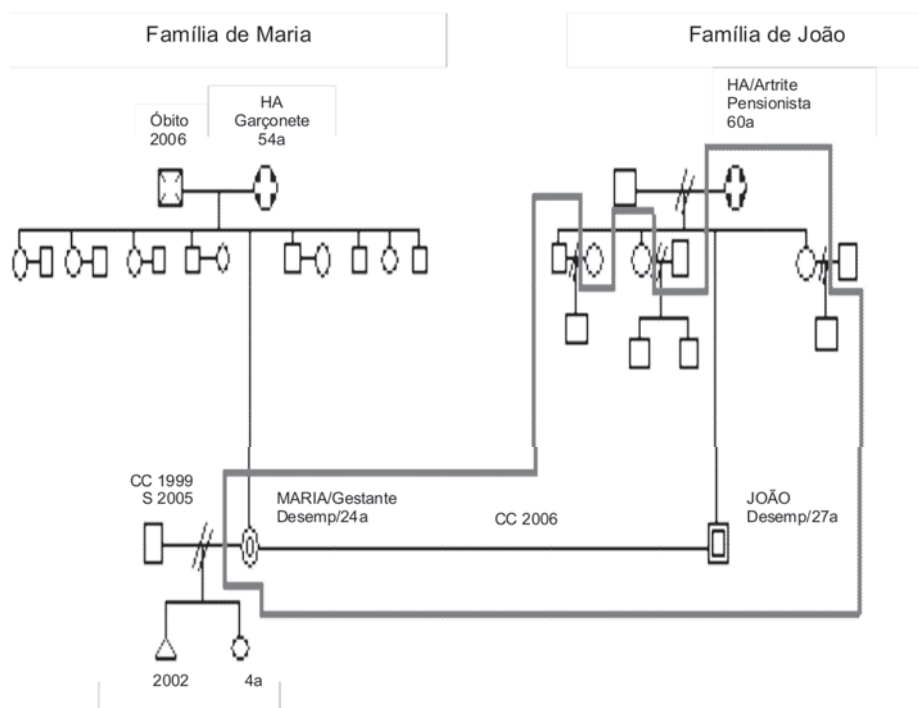
neste caso, que Maria e João fazem parte de um subsistema dentro dessa família.

Quanto à família extensa de Maria, ela já havia tido uma união consensual que durou 6 anos, advindo um aborto e uma filha de 4 anos, a qual mora na casa de sua mãe, 54 anos, com seus outros irmãos em uma cidade da região metropolitana de Fortaleza. O pai de Maria faleceu recentemente, sendo que a mesma não soube informar a causa, este acontecimento causou repercussão na estabilidade da família extensa.

O estágio do ciclo vital desta família está delineado na fase familiar de adultos jovens, em que ocorreu a saída de jovens da casa dos pais e o retorno após uma crise.

A mãe de João é pensionista e seus irmãos trabalham, sendo João o único desempregado da casa; a renda geral mensal do domicílio é de aproximadamente R\$ 1.700,00 (um mil e setecentos reais) mensais, o que equivale a um pouco mais de quatro salários mínimos vigentes. Cada um atende as suas necessidades com o que ganha e a mãe ajuda a todos. João tem o ensino médio completo e Maria concluiu o 4º ano do ensino fundamental. Apesar da atual situação econômica de João, quando surgem esporádicas oportunidades de empregos informais, em qualquer que seja a área, o mesmo realiza a função.

O casal passa por dificuldades socioeconômicas e conseguiu comprar o enxoval do bebê por meio desses empregos temporários de João. Maria está grávida de 8 meses e já trabalhou como empregada doméstica. O relacionamento familiar nos pareceu estável, sendo a mãe de João a maior autoridade da casa por manter



**Figura 1.** Genograma.

financeiramente o lar. Observamos, através das falas, que não há conflito de cooperação no lar, portanto todos ajudam como podem nas tarefas diárias.

Compreendemos que estar grávida e portadora de HPV para Maria não constitui um problema grave, mas esta prefere não compartilhar a informação acerca da patologia com ninguém, além de seu companheiro. Na percepção de Maria, após o tratamento, ela irá ficar curada e o bebê só trará melhorias para o casal.

Ao avaliarmos os relacionamentos da família de Maria com os sistemas mais amplos por meio do ecomapa, como está representado na **Figura 2**, percebemos que o contato de Maria com a família extensa, representado por sua mãe, é um vínculo muito forte, principalmente por sua filha morar com a avó, isto é, a mãe de Maria. Segundo a participante do estudo, as visitas à casa de sua mãe são realizadas com uma frequência quinzenal e o relacionamento com os demais irmãos é agradável.

Quanto aos sistemas mais amplos, observamos que Maria tem poucas amigas, tem confiança em apenas uma vizinha, na qual a considera muito amiga. Contudo, ninguém tem conhecimento de sua doença, exceto seu companheiro.

Percebemos que as instituições de apoio à família são: igreja católica, unidade de saúde, onde esta realiza o tratamento para HPV juntamente com o pré-natal. Outros contatos são os trabalhos temporários de João.

Ressaltamos os poucos laços de relacionamentos traçados entre a família de Maria e os demais sistemas, apesar de famílias extensas de ambos os lados do casal, constituindo um sistema familiar fechado. Fato esse que nos leva a enfatizar a importância de instituições sociais de apoio a fim de melhor enfrentar situações ou problemas ocorridos, ou que possam vir a ocorrer.

Maria mostrou-se uma mulher determinada e capaz de tomar decisões significativas na sua vida. Em relação a sua união com João, esta evidenciou que eles têm ótimo relacionamento de apoio mútuo e que sua sogra os auxilia muito, principalmente na parte financeira do casal. Relata que passam o dia juntos e que só se separam quando João vai procurar emprego.

Quanto à interação das pesquisadoras com Maria, avaliamos que a mesma sentiu-se insegura inicialmente, tendo solicitado a presença de João na entrevista; posteriormente, Maria tornou-se mais espontânea, respondendo às perguntas com naturalidade. João colaborou em algumas respostas. Contudo, Maria não se sen-

tiu totalmente segura quanto ao sigilo da doença e preferiu que não gravássemos sua entrevista.

Considera-se relevante a interação das pesquisadoras com a família de Maria pelo fato de abrir portas a uma maior dinâmica de relacionamentos, que se constituíram fracas e por terem sido transmitidas respostas a uma gama de problemas encontrados, auxiliando em sua resolução a curto e longo prazo.

Maria e João resolveram que não contariam para ninguém do diagnóstico de HPV, pois preocupariam seus familiares e os mesmos poderiam considerar o condiloma uma doença rara e grave. Maria e João têm medo de serem discriminados, referiram que se fossem contar para alguém seria para a vizinha, da qual eles frequentam a casa e em quem confiam muito.

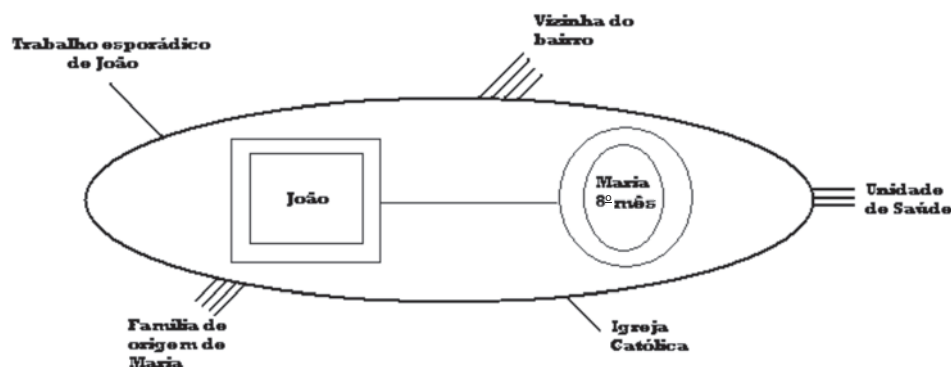
Os subsistemas familiares, Maria e João, definem quem e como as pessoas devem participar. Os subsistemas têm limites, com a função de proteger a diferenciação dos membros entre si<sup>4</sup>. Dessa forma, eles têm o direito e podem compartilhar com quem eles quiserem o problema de saúde de um dos integrantes do subsistema. Assim, verificamos vínculo muito forte entre a diáde João e Maria.

João foi examinado pela enfermeira do serviço e não apresentava nenhuma lesão, não necessitando realizar tratamento. A enfermeira solicitou, após o aceite do mesmo, sorologia para HIV e VDRL, contudo, no período deste estudo, ele ainda não tinha recebido o resultado dos exames laboratoriais. O casal não demonstrou nenhuma ansiedade quanto aos exames dele.

Maria referiu que tinha apenas duas verrugas na genitália e que seu tratamento era através de aplicações de um ácido; referiu que a enfermeira do serviço lhe explicou sobre sua doença, mas, quando indagada sobre o HPV, não soube desenvolver o assunto.

A mesma refere que não se incomodava de realizar esse tratamento, pois achava bom ir ao posto de saúde, e que esse diagnóstico em nenhum momento interferiu na sua relação com o companheiro ou atrapalhou na gravidez, já que ela estava fazendo o pré-natal no mesmo lugar.

Percebemos que o casal tenta demonstrar que não existe preocupação com relação ao HPV, ao tratamento e à gravidez, mas, ao mesmo tempo, esconde a condição da Maria para os familiares de ambos. Acreditamos também que esse segredo se deve à falta de entendimento e informações quanto à doença, pois ela refere que



**Figura 2.** Ecomapa.



em breve terminará o tratamento e estará totalmente curada do condiloma.

O início da atividade sexual dos jovens geralmente não está acompanhado da conscientização da necessidade de medidas de prevenção; portanto, muitos jovens passam a iniciar a vida sexual sem se prevenir contra a gravidez indesejada e a aquisição de DST. Isso se deve principalmente à desinformação, à confiança excessiva na invulnerabilidade, aos tabus sociais e familiares quanto à abordagem da sexualidade e à obtenção de informações por intermédio de pessoas não qualificadas<sup>15</sup>.

Quanto à Maria, pudemos levantar informações acerca do início de sua vida sexual, do casamento na adolescência, de um aborto e de uma filha de 4 anos; o HPV, contraído em uma relação sexual sem proteção (com parceiros anteriores ou recente); do tabu social e familiar, por ela esconder a condição de familiares e amigos; e da desinformação presente em algumas falas do casal.

Segundo o casal, atualmente Maria é a pessoa da casa que mais frequenta o posto de saúde, devido ao tratamento para o HPV e pré-natal que está realizando, seguido da sua sogra, que faz tratamento para artrite. As outras pessoas não estranham as idas frequentes da Maria à unidade de saúde.

Maria e João não fizeram nenhum comentário justificando o retorno, para morar, na casa da mãe dele, após terem passado quase 2 meses em uma cidade da região metropolitana de Fortaleza, mas provavelmente foi devido ao desemprego de ambos. O casal transpareceu felicidade, principalmente com a vinda do bebê, mas Maria demonstra tristeza ao falar da filha, que mora com sua mãe. Refere desejar que a filha more com eles, mas só quando tiverem uma casa própria, a qual é o sonho de ambos. João ouvia Maria atento e não comentava nada sobre as afirmações dela. Ambos demonstraram tranquilidade no ato das respostas, até mesmo sentiam confiança, apoio, por estar com a presença do cônjuge.

Maria demonstrava naturalidade ao referir morar com a sogra, cunhados e sobrinhos e acredita que com a chegada do bebê será ainda melhor. Essa afirmação está relacionada com a ajuda, tanto financeira quanto aos cuidados, que a família poderá dar ao casal com o momento que irão vivenciar com a chegada do bebê.

Quando indagados sobre uma pessoa religiosa com a qual o casal pudesse contar, os mesmos relataram que isso não os ajudaria, pelo contrário, atrapalharia, pois a família é católica e também frequenta a igreja, tal fato poderia expor a doença para mais pessoas e ainda havia a possibilidade da informação chegar até os familiares. Como mostrado no Ecomapa, além do posto de saúde e da igreja, o casal só frequenta a casa de uma vizinha e referiram não ter vontade de participar de eventos, encontros, grupos, dentre outros suportes de apoio do bairro.

Os fatores ambientais, como adequação de espaço, privacidade e acesso às escolas, creches, transportes públicos, serviços de saúde, atividades de lazer, influenciam no funcionamento da família. A falta de moradia, principalmente, não é um problema urbano nem regional, e sim um problema disseminado<sup>4</sup>.

Maria refere que o primeiro casamento foi muito difícil, pois a mesma era muito jovem. O início do casamento foi muito bom, pois seu marido era responsável, não deixava faltar nada para a família, só bebia nos finais de semana. Depois ele começou a

beber diariamente, a sair com outras mulheres e a agredi-la fisicamente. Teve esse aborto em consequência de uma briga, após ser agredida pelo marido; evitou outras gravidezes por um tempo, até que engravidou novamente.

## Avaliação do Desenvolvimento

O desenvolvimento da família está relacionado a eventos previsíveis e imprevisíveis e tendências sociais, tais como o divórcio, novo casamento, doença crônica, criminalidade, dentre outros; diferentemente do ciclo vital da família que se refere à trajetória típica que a maioria das famílias percorre, tais como a entrada e a saída dos membros da família, evoluindo em eventos geralmente previsíveis<sup>4</sup>.

Os eventos que marcaram o desenvolvimento e o ciclo vital da família de Maria foram a separação do primeiro companheiro, a união com o atual companheiro, a necessidade de ter que deixar sua filha morar com a avó e a descoberta da doença.

*Passei seis anos com ele (primeiro marido); durante os três primeiros anos, ele só bebia nos finais de semana, depois passou a beber sempre, devido às amizades, e nos deixou passar necessidades.* (Maria)

*O pai da minha filha é um Zé Ninguém, não ajuda financeiramente, não vê a criança porque não quer. De uma hora pra outra, não queria mais saber de nada, não assumia a família, a casa, parou de trabalhar e ficou bebendo.* (Maria)

Com as falas de Maria, pudemos observar que havia uma união estável nos primeiros anos, contudo, depois que o companheiro passou a ingerir bebida alcoólica frequentemente e não mais ajudou nas obrigações do lar, ela tomou a decisão de separar-se do seu companheiro; este, atualmente, não ajuda financeiramente nem na educação da filha.

Diversos fatores podem interferir na vida dos cônjuges, um deles é o uso de bebida alcoólica com frequência, como foi o caso deste casal; o alcoolismo geralmente provoca desarmonia nos lares.

*Depois que me separei, fui trabalhar em casa de família, aí conheci o João, 1 ano depois. Estamos juntos há 9 meses. Ninguém das nossas famílias foi contra a nossa união. Agora estou feliz.* (Maria)

Percebemos que, nesta segunda união consensual, Maria apresenta-se feliz, recuperando suas esperanças e sonhos para dar continuidade a sua vida amorosa, ressaltando também a importância do apoio familiar oferecido a eles, desde o momento em que receberam a aprovação da união.

O processo emocional familiar na transição para o segundo casamento consiste em combater o medo de investir em novos relacionamentos: os próprios medos, os medos do cônjuge e os dos filhos (de cada um dos cônjuges). Também consiste em enfrentar as reações hostis ou perturbadoras dos filhos, da família extensa e do ex-cônjuge<sup>4</sup>. Apesar do escrito acima, Maria não demonstrou nenhuma ansiedade.

*Eu não tomaria como exemplo o casamento dos meus pais, pois meu pai traía minha mãe.* (Maria)

João concordou com a fala de Maria, relatando que o mesmo acontecia com seus pais. Então, observamos a preocupação um

com o outro, desejando não levar para a vida pessoal a experiência que tiveram com os pais.

*Tenho vontade de sair da casa da minha sogra, morar no mesmo bairro, mas ter nossa própria casa... é bom morar na casa da gente... fica mais à vontade. Não tem nada a ver com os irmãos dele não, mas para ter só nossa família, nossa casa.* (Maria)

*Sinto falta da minha filha, a minha mãe que cria... vou lá de 15 em 15 dias, fica ruim ela vir porque já é muita gente na casa... mas a família do João gosta dela. Quando eu tiver minha casa, vou levá-la para morar comigo.* (Maria)

Maria, em nenhum momento, mostrou-se insatisfeita, porém apresentou o desejo de constituir o seu próprio lar, ter sua família e poder morar junto com a sua filha.

Relacionado à gravidez e à doença, Maria não demonstrou nenhum agravo, refere que a gravidez não interferia na doença, nem a doença na gravidez, contudo evitou relatar o fato de ter sido acometida pelo HPV para seus familiares e amigos, pois, além de não confiar nas pessoas, referiu também que não gostaria de preocupá-los.

## CONCLUSÃO

Apesar das informações fornecidas pela enfermeira do serviço de saúde, Maria não tinha conhecimento sobre a doença e os riscos que a mesma poderia acarretar para a sua gravidez.

A doença não interferiu na relação conjugal e nem afetou o desenvolvimento da família nuclear, entretanto o casal não se sentiu à vontade em compartilhar essa informação com outros membros, pois não quiseram preocupá-los ou sentiram-se receosos de serem discriminados.

Outro aspecto que observamos foi o sentimento dispensado por Maria com relação ao desejo da constituição de um lar – ela, seu companheiro e filhos – apesar da boa convivência com a família nuclear de João.

Percebemos que Maria apresenta um forte vínculo com sua família extensa, principalmente pelo fato de sua filha ainda morar com a mãe, representando um aspecto positivo. Tendo em vista que a família nuclear de Maria traçava poucos laços com os demais sistemas sociais de apoio, consideramos importante a manutenção deste vínculo.

Observamos um sistema familiar fechado, com pouca interação social, destacando as relações fortes com o serviço de saúde, a vizinha e a família extensa de Maria e as relações fracas com a Igreja Católica e os serviços temporários realizados por João. Apesar desses vínculos fortes, João e Maria não sentiam confiança em expressar o problema pelo qual estavam passando, no caso o condiloma.

Portanto, verificamos que, apesar de o casal relatar que não houve grandes repercussões com a descoberta do HPV, emergi-

ram os sentimentos de vergonha e medo de rejeição, comprovando a existência de estigmas associados às doenças sexualmente transmissíveis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carvalho IMM, Almeida PH. Família e proteção social. São Paulo Perspec 2003; 17(2): 109-22.
2. Osório LC. A família como grupo primordial. In: Zimerman DE, Osório LC. Como trabalhamos com grupos. 4ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 1999. 49-58p.
3. Elsen I. Cuidado Familiar: Uma proposta inicial de sistematização conceitual. In: Elsen I, Marcon SS, Silva MRS. O viver em família e sua interface com a saúde e a doença. Maringá: Eduem; 2002. 406p.
4. Leahey M, Wright LM. Enfermeiras e Famílias: um guia para avaliação e intervenção na família. São Paulo: ROCA; 2002.
5. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Brasília: instituição federal; 2005 [atualizada em 2005; acesso em 13 de abril de 2008]. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios – PNAD. Proporção de pobres (%) segundo Região. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabgi.exe?idb2006/b05.def>
6. Instituto Nacional do Câncer. Rio de Janeiro: instituto; 2006. [atualizada em 2006; acesso em 10 de maio de 2007]. Perguntas e respostas mais frequentes. Disponível em: [http://www.inca.gov.br/conteudo\\_view.asp?id=327#topo](http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=327#topo)
7. Freitas F, Menke CH, Rivoire W, Passos EP e colaboradores. Doenças sexualmente transmissíveis. Rotinas em Ginecologia. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2001.
8. Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Cadernos de Atenção Básica n.13: controle dos cânceres do colo do útero e da mama. Brasília (Brasil): Ministério da Saúde; 2006. 132p.
9. Instituto Nacional do Câncer. Registro de câncer de base populacional – RCBP: distribuição do total de casos de câncer matriculados no Hospital, segundo localização topográfica e sexo. Fortaleza (Ceará): INCA; 2002.
10. Freitas F, Menke CH, Rivoire W, Passos EP e colaboradores. Lesões de baixo e alto grau no colo uterino. Rotinas em Ginecologia. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2001.
11. Nadal SR, Manzione CR. Vacinas contra o papiloma vírus humano. Rev bras Coloproct 2006; 26(3): 337-40.
12. Garland SM. Human papillomavirus vaccines: challenges to implementation. Sex Health 2006; 3(2): 63-5.
13. Barroso MGT, Monteiro ARM. A família da criança-problema na escola: um estudo de fenomenologia sociológica aplicada à enfermagem. In: Barroso MGT, Vieira NFC, Varela ZMV (Org.). Saúde da Família – abordagem multi-referencial em pesquisa. Sobral: UVA; 2002. 19-40p.
14. Polit DF, Beck CT, Hungler BP. Compreensão do delineamento da pesquisa qualitativa. Fundamentos de pesquisa em enfermagem: métodos, avaliação e utilização. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2004.
15. Rabelo STO, Falcão Júnior JSP, Freitas LV, Lopes EM, Aquino PS, Pinheiro AKB, Ximenes LB. Gravidez e DST: práticas preventivas entre universitários. J bras Doenças Sex Transm 2006; 18(2): 148-55.

### Endereço para correspondência:

**ANA DÉBORA ASSIS MOURA**

Rua Afrodísio Gondim, 359, Montese, Fortaleza, CE.

CEP: 60416-420.

Tel: 85 3494-3257.

E-mail: anadeboraam@hotmail.com

Recebido em: 02/10/2007

Aprovado em: 14/08/2008

# COINFEÇÃO DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* E HPV EM MULHERES COM CONDILOMA ACUMINADO

*CHLAMYDIA TRACHOMATIS* AND HPV COINFECTIONS IN WOMEN WITH CONDILOMA ACUMINATA

Larissa D Marcolino<sup>1</sup>, Jossimara Polettini<sup>2</sup>, Andréa R Tristão<sup>3</sup>, Mariângela Esther A Marques<sup>4</sup>, João Manuel G Candeias<sup>5</sup>, Rodrigo Alessandro R Vela<sup>6</sup>, Márcia G Silva<sup>7</sup>

## RESUMO

**Introdução:** a cervicite por *Chlamydia trachomatis* é reconhecida como uma das doenças sexualmente transmissíveis (DST) de origem bacteriana mais prevalentes no mundo e a infecção genital por Papilomavírus Humano (HPV) é uma das DST de origem viral mais frequentes. **Objetivo:** avaliar a taxa de coinfeção de *C. Trachomatis* e HPV em mulheres com condiloma acuminado. **Métodos:** foram incluídas no estudo 30 mulheres com diagnóstico clínico e histopatológico de condiloma acuminado em região vulvar, vaginal ou perianal. As lesões genitais foram excisadas e seccionadas em duas metades, uma para exame histopatológico e outra para extração de DNA. A detecção do DNA de HPV nas amostras foi realizada empregando-se a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR), com posterior genotipagem pela reação de PCR multiplex com *primers* específicos para diferentes tipos virais. A pesquisa de *C. trachomatis* também foi realizada por PCR, empregando-se os *primers* PCT1 e PCT2. **Resultados:** a positividade de DNA-HPV nas amostras de condiloma acuminado foi de 100%, sendo detectados genótipos 6/11 em 33,3% das amostras, genótipo 18 em 6,7% e infecção por múltiplos genótipos em 56,7% das lesões, e em apenas uma amostra (3,3%) o genótipo não foi identificado. A positividade de *C. trachomatis* no canal cervical das mulheres com condiloma acuminado foi de 33,3%. **Conclusão:** a taxa de coinfeção de *C. trachomatis* e HPV, em mulheres com condiloma acuminado, é alta e a estratégia de rastreamento e tratamento da infecção clamidiana poderia ser incorporada na rotina ginecológica desse grupo de pacientes.

**Palavras-chave:** papilomavírus humano, *Chlamydia trachomatis*, condiloma acuminado, DST

## ABSTRACT

**Introduction:** *Chlamydia trachomatis* is worldwide recognized as one of the most prevalent sexually transmitted diseases (STD) of bacterial origin, whereas genital Human Papillomavirus (HPV) infection is one of the most important STD caused by virus. **Objective:** evaluate the coinfection rate of *C. trachomatis* and HPV in women with condyloma acuminata. **Methods:** thirty women were included in the study based on clinical and histopathological diagnosis of condyloma acuminata in vulvar, vaginal or perianal region. The excised lesions were divided into two halves, one was submitted to a histopathological exam and the other to DNA extraction. *C. trachomatis* was detected by PCR using CTP1 and CTP2 primers and the HPV DNA was detected by PCR and subsequent typed by PCR with HPV specific primers. **Results:** the HPV DNA positivity was 100% in all samples. HPV type 6/11 was found in 33.3% of the samples, type 18 in 6.7%, and we also found infection with multiple HPV types in 56.7% of HPV induced lesions, and only one sample (3.3%) was not genotyped. The *C. trachomatis* positivity in cervical secretions of women with condyloma acuminata was 33.3%. **Conclusion:** the coinfection rate of *C. trachomatis* and HPV in women with condyloma acuminata is high and the screen and treat strategy for chlamydial infection should be incorporated to gynecology routine care in these patients.

**Keywords:** human papillomavirus, *Chlamydia trachomatis*, condyloma acuminata, STD

## INTRODUÇÃO

A infecção clamidiana é reconhecida como uma das mais frequentes doenças sexualmente transmissíveis (DST) de origem bacteriana no mundo e de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) 90 milhões de casos novos ocorrem a cada ano<sup>1</sup>. A prevalência de *Chlamydia trachomatis*, dependendo da população estudada, varia de 2,4%<sup>2</sup> a 37,4%<sup>3</sup> e apresenta-se assintomática em até 76% das mulheres infectadas<sup>4</sup>.

Devido à característica silenciosa dessa infecção, podem ocorrer diversas complicações sendo a doença inflamatória pél-

vica a mais importante, podendo resultar em gravidez ectópica, infertilidade e dor pélvica crônica<sup>5</sup>. Há algumas evidências de que a *C. trachomatis* possa contribuir para outras complicações obstétricas, incluindo parto prematuro e rotura prematura de membranas<sup>6</sup>, além de consequências perinatais como mortalidade, pneumonia neonatal<sup>7</sup> e conjuntivite<sup>8</sup>, como possíveis resultados de transmissão vertical.

Mulheres portadoras de alguma DST apresentam risco aumentado de adquirir infecção clamidiana<sup>9</sup>. Em estudo recente, cerca de 50% das mulheres HIV positivas avaliadas apresentaram infecção por *C. trachomatis*<sup>10</sup>. Nesse mesmo sentido, já foi relatado que mulheres soropositivas para *Herpes simplex virus* apresentaram maior taxa de soropositividade para *C. trachomatis*<sup>11</sup>. Esses dados sugerem que fatores comportamentais e sexuais podem potencialmente contribuir para a aquisição dessas infecções.

As infecções cervicais por *Neisseria gonorrhoeae* apresentam características comuns à infecção clamidiana, podendo provocar cervicite e até mesmo sérias complicações gestacionais. Embora a prevalência de *N. gonorrhoeae* tenha reduzido nos últimos anos, a infecção por esse agente é um fator de risco para a presença de *C. trachomatis*. Em pacientes com gonorreia a prevalência de infecção clamidiana é extremamente alta, atingindo cerca de 70%<sup>12</sup>.

As infecções genitais e perianais pelo papilomavírus humano (HPV) são as mais frequentemente diagnosticadas entre as

<sup>1</sup>Graduada do Curso de Ciências Biológicas – Modalidade Médica do Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP – Botucatu (SP) - Brasil.

<sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – Botucatu (SP) - Brasil.

<sup>3</sup>Doutora pelo Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – Botucatu (SP) – Brasil.

<sup>4</sup>Professora Adjunta do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – Botucatu (SP) – Brasil.

<sup>5</sup>Professor Assistente Doutor do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP – Botucatu (SP) - Brasil.

<sup>6</sup>Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – Botucatu (SP) - Brasil.

<sup>7</sup>Professora Assistente Doutora do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – Botucatu (SP) – Brasil.

Trabalho desenvolvido no Departamento de Patologia - Faculdade de Medicina de Botucatu. UNESP.

DST de origem viral, acometendo cerca de 30% da população sexualmente ativa, prevalência esta que atinge 65% de acordo com a população e o método diagnóstico empregado<sup>13,14</sup>. Vários trabalhos têm sugerido que HPV e *C. trachomatis* têm papel central no desenvolvimento de neoplasias intraepiteliais cervicais<sup>15</sup>, possivelmente pela modulação da imunidade do hospedeiro e/ou presença de inflamação crônica.

No estado de São Paulo, as verrugas anogenitais passaram a ser a segunda causa mais importante das DST diagnosticadas nos ambulatórios especializados<sup>16</sup>. Pacientes com condiloma acuminado têm maior chance de serem portadores de outras DST, que devem ser investigadas. Assim, considerando a via de transmissão da *C. trachomatis* e do HPV e a maioria das pacientes com cervicite por *C. trachomatis* ser assintomática, as mulheres com condiloma acuminado poderiam ser beneficiadas, em relação ao diagnóstico de *C. trachomatis*, na busca ativa dessa infecção.

## OBJETIVO

Avaliar a taxa de coinfeção de *Chlamydia trachomatis* e HPV em mulheres com condiloma acuminado.

## MÉTODOS

Foi realizado estudo prospectivo incluindo 30 mulheres com diagnóstico clínico e histopatológico de condiloma acuminado em regiões vulvar, vaginal ou perianal, atendidas no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) do Centro de Saúde Escola da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, no ano de 2007.

As mulheres que realizaram tratamento de infecções do trato genital inferior ou qualquer outra infecção, no período inferior a 60 dias ou que fizeram uso de antibióticos e as pacientes com menos de 72 horas de abstinência sexual, no momento do exame, foram orientadas quanto às condições ideais de exame e nova consulta foi realizada.

As pacientes incluídas no estudo foram previamente informadas quanto à finalidade da pesquisa, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e responderam ao questionário para obtenção de dados sócio-demográficos. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP (Protocolo 19/2007).

## Coleta de material para pesquisa de *C. trachomatis* e HPV

Durante o exame especular, empregando-se o espéculo bivalvo de Collins esterilizado e isento de qualquer lubrificante, foi realizado raspado endocervical com *cytobrush* para pesquisa de *C. trachomatis*. O material endocervical foi realizado em tubo Falcon de 15 mL com 1000 µL da solução de Tris-HCl 50mM pH 8,5 / EDTA 1mM pH 8,0 (TE) e armazenado a -20°C até o momento do processamento.

As lesões clinicamente sugestivas de doença HPV induzida foram submetidas à biópsia para confirmação histopatológica, selecionando-se a lesão de maior representatividade clínica. Após antisepsia do local e anestesia infiltrativa na base da lesão selecionada usando lidocaína a 2% foi realizada ressecção pela base com lâmina de bisturi número 15; compressão da ferida

com gaze cirúrgica por alguns minutos e, quando necessário, foi realizada a sutura da pele e/ou mucosa sangrante com fio de *mononylon* número 4.0.

A lesão excisada foi seccionada em duas metades, uma acondicionada em frasco contendo formol a 10%, que foi processada para análise histopatológica, e outra em tubo tipo *eppendorf* de 1,5 mL com 500 µL da solução de Tris-HCl 50mM pH 8,5 / EDTA 1mM pH 8,0 / Tween 20 0,5% (TET), e armazenada a -20°C até o momento do processamento.

## Análise histopatológica das lesões genitais

Secções das lesões genitais clinicamente sugestivas de doença HPV induzidas foram desidratadas em álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Os blocos obtidos foram seccionados em micrótomo comum, obtendo-se cortes com cerca de 5µm de espessura que foram montados em lâminas de vidro. As lâminas foram coradas pelo método clássico de hematoxilina e eosina (HE). Nas lesões verrucosas, os critérios morfológicos avaliados foram: presença de acantose e papilomatose, presença de coilocitos e células binucleadas, hiperparaceratose e paraceratose nas camadas superficiais.

## Pesquisa de *C. trachomatis* e HPV

A presença de *C. trachomatis* na endocérvice foi avaliada pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). Para o HPV, foram empregadas as técnicas de PCR e tipagem por PCR multiplex.

Inicialmente foi realizada a extração do DNA das amostras coletadas seguindo o protocolo descrito previamente<sup>17</sup>. Resumidamente, as amostras foram digeridas enzimaticamente com proteinase K em condições que favorecem a lise celular e a liberação de ácidos nucleicos em solução. A seguir, o DNA obtido foi submetido à purificação orgânica com CTAB (cetyltrimethylammonium bromide) para eliminação de restos celulares e contaminantes que podem inibir sua amplificação pela PCR. Posteriormente, o DNA foi precipitado em etanol e ressuspensão em tampão TE para posterior utilização.

Para as reações de PCR foram preparados todos os *master mixes* em volume final de 25 µL, composto por 2,5 µL de PCR Buffer 10x (Invitrogen); 2µL de MgCl<sub>2</sub>; 0,5 µL DNTP *mix* 20 mM; 0,25 µL de Taq DNA Polimerase (Platinum, Invitrogen); 1,25 µL de cada *primer* na concentração de 10 µM; 15,25 µL de água Milli-Q autoclavada (Milli Q Plus, Milipore) e 2 µL de cada amostra pesquisada. As incubações foram realizadas em termociclador Eppendorf Mastercycle Personal.

Para pesquisa de *C. trachomatis* foram utilizados os *primers* PCT1 e PCT2<sup>18</sup>, empregando-se os parâmetros de 95°C durante 5 minutos e ciclagem de 95°C por 1 minuto para desnaturação, 55°C durante 1 minuto para anelamento dos *primers* e 72°C por 1 minuto e 30 segundos para extensão, seguido de mais 39 ciclos idênticos ao descrito, e extensão final a 72°C por 5 minutos. Em todas as reações realizadas foi utilizado controle negativo, através da substituição do ácido nucleico por água Milli-Q autoclavada e controle positivo contendo DNA extraído de células McCoy infectadas por *C. trachomatis*.

Para pesquisa de HPV foram utilizados os *primers* GP5+ e GP6+<sup>19</sup> empregando-se os parâmetros de 95°C durante 5 minutos e ciclagem de 95°C durante 45 segundos para desnaturação,

47,7°C durante 45 segundos para anelamento dos *primers* e 72°C durante 1 minuto para polimerização, seguido de mais 44 ciclos idênticos ao descrito. Finalizando, a temperatura de extensão final foi de 72°C por 7 minutos e resfriamento a 4°C. Em todas as reações realizadas foi utilizado controle negativo, através da substituição do ácido nucleico por água Milli-Q e controle positivo contendo DNA de HPV extraído de células HeLa.

A extração do DNA das amostras estudadas foi verificada pela amplificação do gene constitutivo da  $\beta$ -globina. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5% (Invitrogen) preparada em tampão tris-ácido bórico-EDTA (TBE) 1X e corada com brometo de etídio (Gibco BRL). O tamanho dos produtos amplificados foram comparados com o padrão de 50 pb e 100 pb (GE Healthcare) e visualizados sob transiluminação ultravioleta.

## Tipagem de HPV

Para a determinação dos tipos virais presentes nas amostras que apresentaram positividade para DNA de HPV foi empregada a técnica de PCR multiplex. Foram utilizados *primers* específicos para os tipos 6/11, 16, 18<sup>20</sup>. As reações foram realizadas em tubos para PCR de 0,2 mL em volumes totais de 20  $\mu$ L, contendo 0,6  $\mu$ L de cada *primer* na concentração de 10  $\mu$ M, 10  $\mu$ L de GoTaq<sup>®</sup> Green Master Mix (Promega), 4,4  $\mu$ L de água Milli-Q autoclavada e 2  $\mu$ L da amostra de DNA. Os parâmetros utilizados foram 94°C durante 5 minutos e ciclagem de 94°C durante 1 minuto para desnaturação, 53,5°C durante 30 segundos para anelamento dos *primers* e 72°C durante 1 minuto para polimerização, seguido de mais 37 ciclos idênticos ao descrito. Finalizando, a temperatura de extensão final foi de 72°C por 7 minutos e resfriamento a 4°C.

Também foi realizada a pesquisa de HPV33 através de PCR *primer*-específico<sup>20</sup>. Em cada reação foram utilizados 0,6  $\mu$ L de cada *primer* na concentração de 10  $\mu$ M, 10  $\mu$ L de GoTaq<sup>®</sup> Green Master Mix (Promega), 5,6  $\mu$ L de água Milli-Q autoclavada e 2  $\mu$ L da amostra de DNA. Os parâmetros utilizados foram 94°C durante 4 minutos e ciclagem de 94°C durante 1 minuto para desnaturação, 45°C durante 1 minuto para anelamento dos *primers* e 72°C durante 1 minuto para polimerização, seguido de mais 37 ciclos idênticos ao descrito. Finalizando, a temperatura de extensão final foi de 72°C por 7 minutos e resfriamento a 4°C.

Em todas as reações realizadas foi utilizado controle negativo, através da substituição do ácido nucleico por água Milli-Q, e controle positivo contendo clones de DNA de HPV específicos para cada um dos genótipos virais estudados.

## Análise estatística

Os dados referentes ao estado civil, etnia, hábito de fumar e uso de anticoncepcional oral foram submetidos ao teste exato de Fisher para análise de associação com infecção por *C. trachomatis*. O nível de significância adotado para o teste empregado foi de 5%.

## RESULTADOS

As variáveis sócio-demográficas das pacientes incluídas no estudo estão apresentadas na **Tabela 1**. Em relação à idade, a mediana foi de 21 anos (15-42).

Todos os produtos de exérese ou *shaving* das lesões genitais clinicamente sugestivas de infecção por HPV submetidas à análise histopatológica foram diagnosticados como condiloma acuminado (**Figura 1**).

A positividade para DNA de HPV nas amostras de condiloma acuminado foi de 100,0%. O genótipo viral identificado com maior frequência foi o 6/11, representando 33,3% do total das amostras, seguido pelo genótipo 18 que representou 6,7% das amostras analisadas. As lesões HPV induzidas apresentaram expressiva porcentagem de infecção por mais de um genótipo de HPV, denominada infecção mista (56,7%) (**Figura 2**). Em apenas uma amostra (3,3%) o genótipo viral não foi identificado. Do total de pacientes incluídas no estudo 33,3% apresentaram positividade para DNA de *C. trachomatis* na secreção cervical.

## DISCUSSÃO

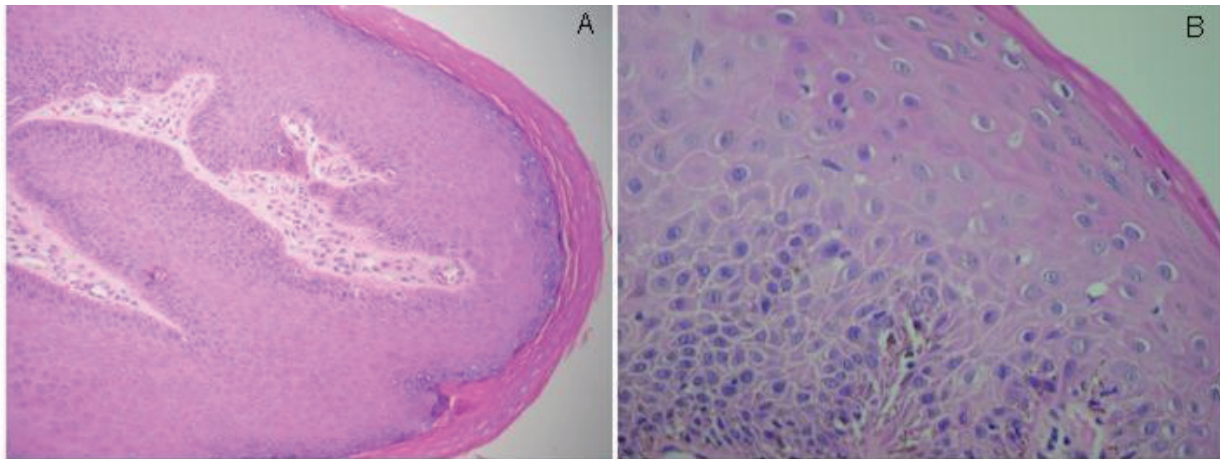
Foram incluídas neste estudo todas as pacientes com verrugas genitais atendidas no Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) do Centro de Saúde Escola da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, no ano de 2007 e a mediana da idade das pacientes foi de 21anos (15-42), 80,0% eram brancas e 76,7% estavam solteiras no momento da inclusão no estudo. Em relação a essas características, a literatura mostra que cerca de 25% das

Tabela 1. Variáveis sócio-demográficas das pacientes incluídas no estudo.

Variáveis	Positividade de <i>Chlamydia trachomatis</i> (n=10)	
	N (%)	p*
Estado civil		
Solteira (n=23)	8 (34,8)	1,000
União estável (n=7)	2 (28,6)	
Etnia		
Branca (n=24)	7 (29,2)	0,372
Não branca (n=6)	3 (50,0)	
Anticoncepcional Oral (12/25 <sup>#</sup> )	7 (58,3)	0,111
Tabagismo (8/24 <sup>#</sup> )	3 (37,5)	1,000

\* Teste exato de Fisher

# Total de pacientes avaliadas para essa variável



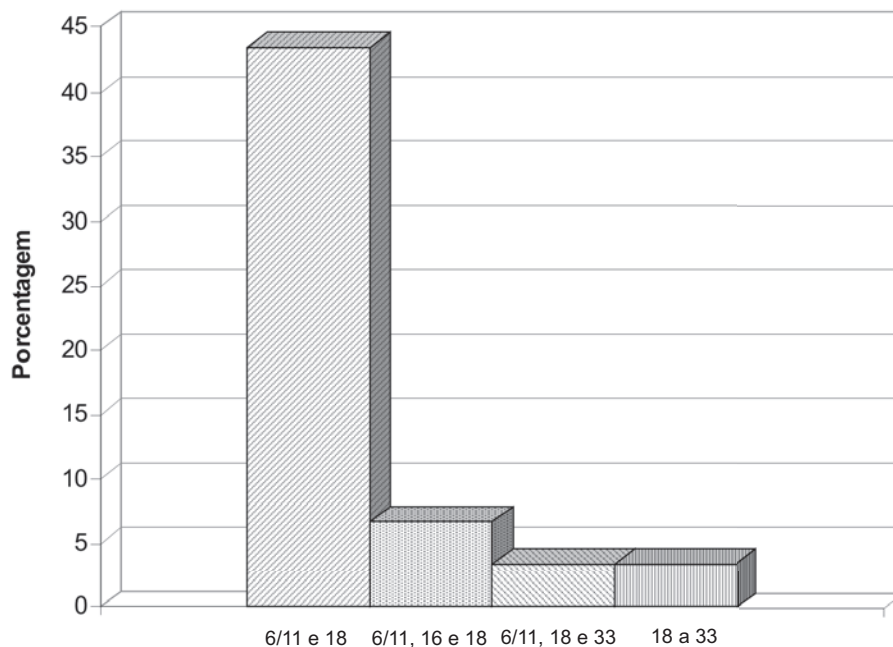
**Figura 1.** A. Fotomicrografia do corte histológico de lesão genital HPV induzida, evidenciando hipergranulose e paraceratose. HE. 200X. B. Fotomicrografia do corte histológico de lesão genital HPV induzida, evidenciando coilócitos. HE. 400X.

mulheres com verrugas genitais clínicas apresentam menos de 30 anos de idade<sup>3</sup>, suportando os achados de condiloma acuminado em mulheres mais jovens<sup>21</sup>.

Nesse estudo não foi encontrada relação entre a presença de infecção clamidiana e/ou presença de DNA-HPV e estado civil das mulheres estudadas. Essa relação também não foi descrita por outros relatos da literatura<sup>4,15</sup>. Quanto à etnia, Blas *et al.*<sup>6</sup> encontraram infecção clamidiana mais comumente em mulheres não-brancas, associação esta que não foi verificada em nosso estudo, tendo em vista a predominância de mulheres brancas.

Em relação a outros fatores sócio-demográficos, 33,3% das mulheres incluídas no estudo referiram o hábito de fumar e 48,0% das pacientes faziam uso de contraceptivos orais. O tabagismo é fator de risco para a infecção clamidiana<sup>14</sup>, e segundo trabalhos descritos, o hábito de fumar também é um dos principais fatores associados à presença do condiloma acuminado,<sup>21</sup> aumentando o risco de recidiva das lesões HPV induzidas ou a progressão dessas lesões devido à persistência da atividade viral.

Achados da literatura sugerem que o uso de contraceptivos orais não está relacionado à presença de *C. trachomatis*<sup>3</sup>. Por



**Figura 2.** Prevalência de infecção mista de HPV nas lesões genitais HPV induzidas incluídas no estudo.

outro lado, mulheres que fizeram uso de contraceptivo de emergência possuem altos níveis de progesterona, o que aumenta 2,5 vezes o risco de infecção clamidiana<sup>14</sup>. Além disso, o uso de anticoncepcionais orais está relacionado com a presença de condiloma acuminado<sup>21</sup>, e atua conjuntamente com outros fatores como alterações genéticas e alguns tipos de HPV, na transformação de células e nas progressões das lesões intraepiteliais cervicais.<sup>22</sup>

No presente estudo, o DNA-HPV foi detectado em todas as amostras de condiloma acuminado. Quanto ao genótipo viral envolvido nessas lesões, a literatura descreve que verrugas genitais são as lesões HPV induzidas mais comuns e que estão associadas aos HPV de baixo risco oncogênico, como os genótipos 6 e 11<sup>23</sup>, os quais foram identificados com maior frequência neste estudo, representando 86,7% do total dos genótipos caracterizados, incluindo as infecções mistas. Sun *et al.*<sup>23</sup>, estudando biópsias de pacientes com condiloma acuminado, detectaram genótipos 6 e/ou 11 em 92,2% das amostras. Entretanto, 63,4% das amostras apresentaram o genótipo viral 18, isoladamente ou concomitante a outro genótipo. Embora poucos trabalhos da literatura demonstrem a genotipagem de HPV em amostras de condiloma acuminado, nossos resultados enfatizam que esse grupo de pacientes pode estar em risco de apresentar carcinoma cervical, como sugerido anteriormente<sup>24</sup>.

A infecção por mais de um tipo de HPV na mesma amostra foi de 56,7%. Em lesões precursoras do câncer cervical a incidência de infecção mista é cerca de 49%<sup>25</sup>. Entretanto, ainda não é conhecido se a interação de genótipos diferentes de HPV pode servir como preditora para severidade da doença. Nesse sentido, Gargiulo *et al.*<sup>25</sup> avaliaram, retrospectivamente, a extensão da infecção simples ou múltipla de HPV entre mulheres com citologia anormal. Segundo esses autores, os resultados indicam que a detecção de infecção por múltiplos tipos de HPV não é preditor de câncer cervical em relação à infecção por tipo viral único e que a relevância dessa interação no progresso da doença ainda é desconhecida.

A positividade de *C. trachomatis* nesse estudo foi de 33,3% e é superior a prevalência da maioria dos estudos realizados<sup>2,4,13</sup>. Lee *et al.*<sup>3</sup> encontraram prevalência semelhante, porém em mulheres com ectopia cervical, e os autores sugerem que o rastreamento oportuno para *C. trachomatis* deveria ser realizado a fim de reduzir a prevalência dessa infecção e as suas sequelas. Muitos estudos na literatura têm mostrado a prevalência de diversas DST concomitantes<sup>9-12,26</sup>, porém poucos avaliaram a associação entre condiloma e *C. trachomatis*, e essa relação ainda não foi encontrada<sup>27</sup>. Há de se ressaltar que as complicações decorrentes da cervicite por *C. trachomatis* são severas e que na grande maioria das mulheres a presença de sinais e sintomas é rara. Assim, a busca ativa das infecções do trato genital inferior, quando possível, é sempre desejável, assim como o tratamento etiológico dessas infecções.

## CONCLUSÃO

A prevalência de infecção clamidiana em mulheres com condiloma acuminado é alta e a estratégia de rastreamento e tratamento da infecção clamidiana poderia ser incorporada na rotina ginecológica desse grupo de pacientes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. Política para o controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis no Brasil. Secretaria de Políticas de Saúde. Brasília; PNDST/AIDS; 2001.
2. Eggert-Kruse W, Rohr G, Kunt B, Meyer A, Wondra J, Strowitzki T, et al. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* in subfertile couples. *Fertil Steril* 2003; 80(3): 660-663.
3. Lee V, Tobin JM, Foley E. Relationship of cervical ectopy to chlamydia infection in young women. *J Fam Plann Reprod Health Care* 2006; 32(2): 104-106.
4. Araújo RS, Guimarães EM, Alves MF, Sakurai E, Domingos LT, Fioravante FC, et al. Prevalence and risk factors for *Chlamydia trachomatis* infection in adolescent females and young women in central Brazil. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25(6): 397-400.
5. Paavonen J, Eggert-Kruse W. *Chlamydia trachomatis*: impact on human reproduction. *Hum Reprod Update* 1999; 5(5): 433-447.
6. Blas MM, Canchihuaman FA, Alva IE, Hawes SE. Pregnancy outcomes in women infected with *Chlamydia trachomatis*: a population-based cohort study in Washington State. *Sex Transm Infect* 2007; 83(4): 314-318.
7. Kovács L, Nagy E, Berik I, Mészáros G, Deák J, Nyári T. The frequency and the role of *Chlamydia trachomatis* infection in premature labor. *Int J Gynaecol Obstet* 1998; 62(1): 47-54.
8. Rours IG, Hammerschlag MR, Ott A, De Faber TJ, Verbrugh HA, de Groot R, et al. *Chlamydia trachomatis* as a cause of neonatal conjunctivitis in Dutch infants. *Pediatrics* 2008; 121(2): 321-326.
9. Gopalkrishna V, Aggarwal N, Malhotra VL, Koranne RV, Mohan VP, Mittal A, et al. *Chlamydia trachomatis* and human papillomavirus infection in Indian women with sexually transmitted diseases and cervical precancerous and cancerous lesions. *Clin Microbiol Infect* 2000; 6(2): 88-93.
10. Joyee AG, Thyagarajan SP, Reddy EV, Venkatesan C, Ganapathy M. Genital chlamydial infection in STD patients: It's relation to HIV infection. *Indian J Med Microbiol* 2005; 23(1): 37-40.
11. Smith JS, Muñoz N, Herrero R, Eluf-Neto J, Ngelangel C, Franceschi S, et al. Evidence for *Chlamydia trachomatis* as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis* 2002; 185(3): 324-331.
12. Miller WC, Ford CA, Morris M, Handcock MS, Schmitz JL, Hobbs MM, et al. Prevalence of chlamydial and gonococcal infections among young adults in the United States. *JAMA* 2004; 291(18): 2229-2236.
13. Tábora N, Zelaya A, Bakkers J, Melchers WJ, Ferrera A. *Chlamydia trachomatis* and genital human papillomavirus infections in female university students in Honduras. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 73(1): 50-53.
14. Brabin L, Fairbrother E, Mandal D, Roberts SA, Higgins SP, Chandio S, et al. Biological and hormonal markers of chlamydia, human papillomavirus, and bacterial vaginosis among adolescents attending genitourinary medicine clinics. *Sex Transm Infect* 2005; 81(2): 128-132.
15. Tamim H, Finan RR, Sharida HE, Rashid M, Almawi WY. Cervicovaginal coinfections with human papillomavirus and *Chlamydia trachomatis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 43(4): 277-281.
16. Fagundes LJ, Patriota RCR, Gotlieb SLD. Avaliação da demanda no Ambulatório de doenças sexualmente transmissíveis do CS Geraldo de Paula Souza-Faculdade de Saúde Pública-USP, Brasil, no período de 1994 a 1998. *An Bras Dermatol* 2001; 76(2): 223-232.
17. Vela RAR, Polettini J, Marques MEA, Stolf HO, Candeias JMG, Silva MG, Costa ALB, Matsuo CY, Miot HA. Detecção e genotipagem de papilomavirus humano em lesões de queratoacantoma solitário de pacientes imunocompetentes. *An Bras Dermatol* 2006; 81(5): 443-448.
18. Vinayagamoorthy T, Mulatz K, Hodgkinson R. Nucleotide sequence-based multitarget identification. *J Clin Microbiol* 2003; 41(7): 3284-3292.

19. De Roda Husman AM, Walboomers JMM, Van Den Brule AJC, Meijer CJLM, Snijders, PJF. The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3'ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR. *J Gen Virol* 1995; 76(Pt4): 1057-1062.
20. Van den Brule AJ, Meijer CJ, Bakels V, Kenemans P, Walboomers JM. Rapid detection of human papillomavirus in cervical scrapes by combined general primer-mediated and type-specific polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1990; 28(12): 2739-2743.
21. Kjaer SK, Tran TN, Sparen P, Tryggvadottir L, Munk C, Dasbach E, et al. The burden of genital warts: a study of nearly 70,000 women from the general female population in the 4 Nordic Countries. *J Infect Dis* 2007; 196(10): 1447-1454.
22. zur Hausen H. Papilloma viruses in human cancer. *Proc Assoc Am Physicians* 1999; 111(6): 581-587.
23. Sun AH, Xu Y, Feng Y, Yan J. Study on the frequency of human papillomavirus type 6 and type 11 infection and L1 gene expression of the virus in biopsy samples of pointed condyloma patients. *Zhonghua Liu Xinh Bing Xue Za Zhi* 2006; 27(2): 150-153.
24. Tsuji K, Nakamura Y, Mori I, Tanaka M. Human papilloma virus infection in vaginal condyloma acuminatum. *Rinsho Byori* 2003; 51(2): 93-97.
25. Gargiulo F, De Francesco MA, Schreiber C, Ciravolo G, Salinaro F, Valloncini B, et al. Prevalence and distribution of single and multiple HPV infections in cytologically abnormal cervical samples from Italian women. *Virus Res* 2007; 125(2): 176-182.
26. Hughes G, Catchpole M, Rogers PA, Brady AR, Kinghorn G, Mercey D, et al. Comparison of risk factors for four sexually transmitted infections: results from a study of attendees at three genitourinary medicine clinics in England. *Sex Transm Infect* 2000; 76(4): 262-267.
27. Wen LM, Estcourt CS, Simpson JM, Mindel A. Risk factors for the acquisition of genital warts: are condoms protective? *Sex Transm Inf* 1999; 75(5): 312-316.

**Endereço para correspondência:****MARCIA GUIMARÃES DA SILVA**

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Unesp.

Distrito de Rubião Júnior s/n. Botucatu-SP

CEP: 18618-970

Tel: 55 14 3811-6238; Fax: 55 14 3811-2348

E-mail: mgsilva@fmb.unesp.br

Recebido em: 11/04/2008

Aprovado em: 22/09/2008



# COMPARAÇÃO DE DOIS PARES DE OLIGONUCLEOTÍDEOS UTILIZADOS NA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE PARA DETECÇÃO DE PAPILOMAVÍRUS HUMANOS EM ESFREGAÇOS CERVICAIS

## COMPARISON OF TWO PAIRS OF PRIMERS USED IN POLYMERASE CHAIN REACTION FOR THE DETECTION OF HUMAN PAPILOMAVIRUSES IN CERVICAL SMEARS

Ivna M Magalhães<sup>1</sup>, Natalia Moysés<sup>2</sup>, Larissa A Afonso<sup>2</sup>, Ledy HS Oliveira<sup>3</sup>, Silvia Maria B Cavalcanti<sup>4</sup>

### RESUMO

**Introdução:** o câncer de colo de útero é a neoplasia mais frequente em mulheres de países em desenvolvimento. Grande parte desses casos é causada por infecção persistente com diferentes tipos de papilomavírus humano (HPV) classificados em alto e baixo risco de acordo com o potencial oncogênico. Atualmente, acredita-se que a melhor rotina de identificação e acompanhamento das lesões por HPV de forma a prevenir o câncer cervical é a combinação da técnica de Papanicolaou com a reação em cadeia por polimerase (PCR) na qual ocorre a amplificação de regiões conservadas do genoma viral, com uso de primers degenerados e em seguida identificação do tipo viral. O primer mais utilizado em todo o mundo é o MY09/11, com boa sensibilidade e especificidade. Recentemente, foi descrito na literatura um novo conjunto de primers consensuais denominado PGMY reformulando o primer MY e adicionando um novo primer HMBO visando diminuir perdas do MY (falso negativo). **Objetivo:** comparar os dois pares de primers, MY e PGMY, a fim de apontar aquele mais adequado para o rastreamento de infecções causadas por HPV no colo uterino pela técnica de reação em cadeia da polimerase. **Métodos:** avaliamos 116 amostras de esfregaços cervicais. Após a extração do DNA, a técnica de PCR foi realizada de acordo com os protocolos descritos na literatura. **Resultados:** através desse trabalho, observamos que o par de primers PGMY apresenta maior sensibilidade e especificidade na detecção do DNA do HPV quando comparado com o par de primers MY, além de melhores valores preditivos negativo e positivo. **Conclusão:** o novo par de primers PGMY, deve ser usado para substituir o par MY a fim de melhorar a detecção do DNA viral. **Palavras-chave:** Papilomavírus Humano, câncer cervical, reação em cadeia da polimerase, DST

### ABSTRACT

**Introduction:** cervical cancer is the most frequent neoplasia among the women of countries in development. Great part of those cases is caused by persistent infection with different types of Human Papillomavirus (HPV) classified as high and low risk, according to the risk of cervical cancer development. Nowadays, it is believed that the best identification routine and follow up of the lesions in order to prevent the malignant transformation is the combination of the technique of Papanicolaou with the polymerase chain reaction (PCR), in which the amplification of conserved areas of the viral genome occurs, with use of degenerate primers, followed by type identification. The degenerate primers MY 09/11 are used worldwide, presenting good sensibility and specificity. Recently, a new group of consensual primers denominated PGMY was described in the literature reformulating the primer MY and adding a new primer HMBO seeking to reduce losses of MY (false negative). **Objective:** compare two pairs of primers, MY and PGMY, to discover the most appropriate for the diagnosis of infections caused by HPV in the uterine cervix for the technique of Polymerase chain reaction. **Methods:** a hundred and sixteen samples from cervical smears were evaluated. After DNA extraction, the PCR was done according to the protocols described in the literature. **Results:** we observed that the primers pair PGMY presents better sensibility and specificity in the detection of DNA of HPV when compared to the primers pair MY, it also presents better negative and positive predictive values. **Conclusion:** the new primers pair PGMY should be used to substitute the pair MY to improve the detection of the viral DNA. **Keywords:** Human Papillomavirus, cervical cancer, polymerase chain reaction, STD

## INTRODUÇÃO

O câncer de colo de útero é o segundo tipo de câncer mais frequente entre as mulheres do mundo e o mais comum entre as mulheres de países em desenvolvimento<sup>1,2</sup>. No Brasil, estima-se o surgimento de 18.680 novos casos de câncer de colo de útero para o ano de 2008. Grande parte desses casos é causada por infecção persistente de diferentes tipos de papilomavírus humano (HPV)<sup>3</sup>.

Os papilomavírus humanos (HPV) pertencem à família *Papillomaviridae*, são vírus exclusivamente epiteliotrópicos, infectando a camada basal do epitélio e mucosas através de microlesões e traumas<sup>4</sup>. Mais de 100 tipos de HPV já foram identificados e dentre esses, 40 tipos diferentes são detectados no

trato anogenital<sup>2,5</sup> e classificados de acordo com o potencial carcinogênico. Cerca de 15 tipos de HPV são classificados como de alto risco oncogênico e 12 outros tipos são agrupados como HPV de baixo risco carcinogênico. Existem ainda, alguns tipos que apresentam risco desconhecido na patologia do câncer<sup>5</sup>.

A literatura mundial apresenta inúmeros trabalhos descrevendo como os maiores fatores de risco para infecção por HPV: gênero, idade, e atividade sexual, com alta taxa de infecção em mulheres sexualmente ativas com média de 25 anos de idade<sup>6</sup>. A prevalência de infecção por HPV é mais alta entre mulheres jovens e parece cair com idade crescente<sup>7</sup>.

A detecção e tratamento precoces de lesões pré-malignas causadas por HPV podem prevenir a progressão ao câncer<sup>4</sup>. Entretanto, a identificação e implantação de testes eficientes de diagnóstico virológico foram dificultadas pelo fato do HPV não poder ser cultivado em laboratório a partir de amostras clínicas como é feito com outros vírus, por seu caráter espécie-específi-

<sup>1</sup>Mestranda do Curso de Ciências Médicas da Universidade Federal Fluminense (UFF).

<sup>2</sup>Bolsista PIBIC/CNPq do Curso de Graduação em Biomedicina da UFF.

<sup>3</sup>Professora Titular do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFF.

<sup>4</sup>Professora Associada do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFF.

co, que limita a propagação em modelos animais, e pelos testes imunológicos não serem adequados para a detecção destes vírus<sup>8</sup>. O diagnóstico das lesões sugestivas de infecções por HPV se restringiu primeiramente à citopatologia (teste Pap) e à histopatologia, até que foram desenvolvidos os métodos de biologia molecular capazes de detectar as seqüências do DNA do HPV no material clínico.

O teste de Papanicolaou (teste Pap) é um exame de triagem primário, barato e rápido, porém, possui algumas limitações na detecção de lesões precursoras do câncer cervical, apresentando uma taxa de 20-30% de resultados falso-negativos<sup>4</sup>. Além disso, as amostras inadequadas constituem cerca de 8% do total de amostras recebidas onde pode haver sangue, bactérias, leveduras e aglomeração de células que prejudicam a detecção de células anormais.

A PCR é uma técnica baseada na amplificação enzimática de segmentos específicos de DNA do HPV, através de oligonucleotídeos iniciadores específicos (*primers*) e polimerização com enzimas (DNA – polimerase). O PCR realizado no diagnóstico do HPV pode ser de dois tipos: o PCR genérico que utiliza *primers* consensuais para detectar uma grande variedade de tipos de HPV em uma só amplificação. Os *primers* usados têm como alvo regiões conservadas do genoma viral, tal como a porção L1 do genoma que codifica proteína do capsídeo viral; e o PCR específico, usado na tipagem do vírus, pois se baseia nas variações presentes nos genes E6 e E7 de cada tipo de HPV, que apresentam variações nucleotídicas determinantes da patogenia viral.

## OBJETIVO

Neste trabalho, foi nosso objetivo determinar a sensibilidade e a especificidade de dois pares de *primers* consensuais a fim de apontar aquele mais adequado ao rastreamento de infecções causadas por HPV no colo uterino, pela técnica de reação em Cadeia da polimerase.

## MÉTODOS

**Amostras** - Esse estudo avaliou 116 espécimes de esfregaços de colo uterino provenientes do banco de amostras do Laboratório de Diagnóstico Viroológico do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFF. Estas amostras são provenientes de pacientes atendidas no Hospital Francisco da Cruz Nunes em Itaboraí durante os anos de 2004 e 2005 e no Hospital Moncorvo Filho da UFRJ em 2006 e 2007. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da UFF CEP CMM/HUAP nº 189/04.

**Diagnóstico citológico** - Todas as amostras foram submetidas à coloração pela técnica de Papanicolaou e classificadas como: normal, alterações reativas, ASCUS (atipias escamosas de significado indeterminado), LSIL (lesões intraepiteliais de baixo grau: NIC 1 e 2), HSIL (lesões intraepiteliais de alto grau: NIC 3/ carcinoma *in situ*) e carcinoma invasivo.

## Detecção de HPV pela PCR

**Extração do DNA** - As amostras foram imersas em 150µL de tampão de digestão (50mM Tris-HCl pH8,5; 10mM EDTA, 200µg/mL de proteinase K) durante 3 horas em banho-maria a

uma temperatura de 55°C. A seguir, foi feita a extração do DNA viral pela técnica do fenol – clorofórmio - álcool isoamílico

**Precipitação do DNA** - Cada amostra, processada como descrito anteriormente, recebeu uma solução de acetato de sódio 3M, pH 6,0, na proporção de 1/10 do volume da fase aquosa, e a seguir foi adicionado 2,5 do volume da fase aquosa de etanol absoluto. Fizemos uma homogeneização, por inversão, e as amostras foram mantidas a -20°C *overnight*. No dia seguinte, estas foram centrifugadas a 16.000 x g a 4°C durante 30 minutos. Após centrifugação, o etanol foi dispensado e as amostras ressuspensas em etanol 70%. Uma nova centrifugação foi realizada numa velocidade de 16.000 x g a 4°C durante 15 minutos. O etanol 70% foi desprezado e os tubos permaneceram invertidos até a completa evaporação do etanol. O sedimento de DNA resultante, preso ao fundo do tubo, foi ressuspense em 50µL de água destilada estéril (Ultra-pure, GIBCO-BRL) e a seguir foi estocado a -20°C.

**PCR genérico com primers consensuais MY09/MY11 e PGMY09/11** - *Primers* genéricos MY 09/ MY 11 e PGMY 09/ PGMY11 foram utilizados na triagem das amostras, para amplificar a seqüência de DNA de 450bp, dentro da região ORF L1 do HPV. O *primer* genérico MY é um *primer* degenerado, no qual durante o processo de síntese são incorporadas em alguns sítios específicos diferentes bases nitrogenadas, a fim de contemplar a seqüência gênica de todos os HPV que infectam o trato genital.

Já o *primer* PGMY consiste na mistura de 12 *primers* codificados separadamente além do *primer* HMBO<sup>9</sup> adicionado a fim de aumentar a sensibilidade da técnica. Na ressuspensão deste *pool* de *primers*, cada oligonucleotídeo participa em igual concentração na mistura gerando um produto de 450 pares de bases.

Como controle interno de reação (controle de qualidade da amostra) usamos um par de *primers* do gene da actina humana, Ac1 e Ac2, que amplificam uma seqüência de 310 bp do DNA humano. Como controle positivo da reação, utilizamos amostras conhecidamente positivas e, como controle negativo, foi utilizada água. Como controle-padrão de peso molecular foi usado Fago λ 123bp (GIBCO, BRL).

A amplificação foi executada em 50µL de uma mistura de reação, composta segundo a **Tabela 1** e realizada em um aparelho termociclador (Pekin Elmer, CETUS). As amostras, após a adição da mistura de reação, foram submetidas a 40 ciclos de amplificação, que seguem o seguinte esquema: 94°C por 1 minuto (desnaturação) => 55°C por 1 minuto (anelamento) => 72°C por 1 minutos (extensão). Antes de iniciar a seqüência de 40 ciclos, as amostras foram colocadas a 94°C por 5 minutos (pré-desnaturação) e, ao final dos ciclos, ficaram a 72°C por 7 minutos (estabilização).

Os produtos obtidos pela PCR foram revelados por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com o auxílio de um transiluminador e as bandas observadas no gel foram analisadas através de comparação com o padrão de peso molecular escolhido.

## Análise estatística

Para avaliação da significância dos resultados, utilizamos o programa Epi-Info, contendo os testes de Cohen, t-Student e índice Kappa.

## RESULTADOS

**Amostras** - Nosso estudo avaliou 116 espécimes de esfregaços de colo uterino provenientes do banco de amostras do Laboratório de Diagnóstico Viroológico do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFF. Estas amostras são provenientes de pacientes atendidas no Hospital Francisco da Cruz Nunes em Itaboraí durante os anos de 2004 e 2005 e no Hospital Moncorvo Filho da UFRJ em 2006 e 2007.

**Resultados da citopatologia** - As amostras selecionadas foram submetidas à técnica de coloração por Papanicolaou e divididas em quatro grupos de acordo com o resultado da leitura deste teste. Dentre as 116 amostras, 28 foram classificadas como normal ou inflamatório, 11 amostras foram agrupadas como ASCUS, 35 apresentaram LSIL ou HPV e 42 amostras tiveram alterações celulares compatíveis com HSIL ou CA.

Cerca de 30 amostras de cada tipo citológico foram selecionadas, exceto, as amostras classificadas como ASCUS, que totalizaram 11 amostras, por não terem sido frequentes nos exames realizados nos hospitais selecionados.

**Resultados obtidos pela PCR** - As 116 amostras selecionadas foram submetidas à reação de PCR utilizando os *primers* genéricos MY09/MY11 para detecção do DNA do HPV. Do total de amostras, 65 apresentaram resultado positivo (56%) e 51 (44%) apresentaram resultado negativo utilizando a técnica de PCR MY.

Pelo PCR PGMY, das 116 amostras, 69 apresentaram resultado positivo (59,5%) e 47 (40,5%) obtiveram resultado negativo.

Para interpretar os resultados obtidos, avaliamos a PCR para cada grupo de acordo com a classificação da citopatologia: das 28 amostras classificadas como normais ou inflamatórias pela citopatologia, 11 (39,3%) apresentaram resultado positivo e 17 (60,7%) foram negativas na PCR MY. Utilizando os novos *primers* PGMY09/PGMY11 na técnica da PCR, das 28 amostras, seis (21,4%) apresentaram resultado positivo e 22 (78,6%) tiveram resultado negativo. Do total de amostras, 21 tiveram resultados iguais, apresentando uma concordância de 75% (21/28), e sete amostras apresentaram resultados discordantes: seis amostras foram positivas para a PCR MY e negativas para a PCR PGMY e uma amostra foi negativa para a PCR MY e positiva para a PCR PGMY.

Das 11 amostras classificadas como ASCUS no exame de Papanicolaou, cinco (45,5%) tiveram resultado positivo tanto para a PCR MY quanto para a PCR PGMY e seis (54,5%) foram negativas após PCR utilizando os *primers* MY09/MY11 e PGMY09/PGMY1, apresentando 100% de concordância entre os resultados.

Das 35 amostras classificadas como LSIL/HPV, 21 foram positivas (60%) e 14 foram negativas para a PCR MY (40%). Após a realização da PCR usando os *primers* PGMY09/PGMY11, 25 (71,4%) amostras tiveram resultado positivo e dez (28,6%) tiveram resultado negativo. Assim sendo, 31 apresentaram resultados concordantes e quatro foram discordantes, sendo positivas para a PCR PGMY e negativas para a PCR MY, demonstrando uma concordância de 88,6% (31/35).

Dentre as 42 amostras HSIL ou CA, 28 (66,7%) foram positivas e 14 (33,3%) foram negativas para a PCR realizada com os *primers* MY. Entretanto, utilizando o par de *primers* PGMY,

33 (78,6%) obtiveram resultado positivo e 9 (21,4%) obtiveram resultado negativo. Comparando os resultados demonstrados pelos dois protocolos de PCR, verificamos que 37 amostras tiveram resultados concordantes e cinco apresentaram resultado positivo para a PCR PGMY e negativo para a PCR MY, resultando numa concordância de 88,1% (37/42).

Do total de 116 amostras, 65 foram positivas e 51 foram negativas para a técnica de PCR MY. Enquanto a realização da PCR PGMY demonstrou a existência de 69 amostras positivas e 47 amostras negativas. É interessante observar que 100 amostras apresentaram resultados concordantes para ambos os *primers* enquanto 16 amostras tiveram resultados contraditórios, sendo que desse total, seis amostras foram positivas para a PCR MY e negativas para a PCR PGMY e dez amostras foram negativas para a PCR MY e positivas para a PCR PGMY. A concordância destes protocolos foi de 86,2% (100/116).

Através da realização do teste de Cohen, obtivemos o índice Kappa, que analisa a concordância entre a PCR MY e a PCR PGMY. O valor encontrado foi de 86,2% (100/116), o que representa uma concordância muito boa de acordo com os valores-padrão.

**Análise estatística entre os resultados da citopatologia e das PCR** - As amostras classificadas como normais, inflamatórias e ASCUS no exame de Papanicolaou não são consideradas relacionadas a infecção pelo HPV (citologia negativa) e as amostras classificadas como LSIL, HSIL e CA, refletem anormalidade citológica associada a infecção pelo HPV (citologia positiva). Dentre as 116 amostras, 77 (66,4%) apresentaram citologia alterada (positiva) e 39 (33,6%) tinham citologia negativa (normal).

**Análise entre PCR MY X Citologia** - Dentre as 77 amostras com citologia positiva, 49 (63,6%) tiveram resultado positivo e 28 (36,4%) apresentaram resultado negativo para a PCR MY. E, entre as 39 amostras negativas na citopatologia, 16 são positivas (41%) e 23 (59%) são negativas para a PCR MY.

A sensibilidade encontrada para o teste de PCR MY foi igual a 63,7% (49/77) e o valor preditivo positivo (VPP) obtido foi de 75,4% (49/65). Em relação à especificidade, o método de PCR apresentou um percentual igual a 59% (23/39), e o valor preditivo negativo (VPN) encontrado foi de 45,1% (23/51).

Através da realização do teste de Cohen, obtivemos o índice Kappa, que analisa a concordância entre os testes citopatológico e a PCR MY. O valor encontrado foi de 0,62 (72/116) que, de acordo com os valores-padrão, pode ser considerado como sendo um bom resultado.

**Análise PCR PGMY X citologia** - Das 77 amostras alteradas da citologia, 58 (75,3%) foram positivas e 19 (24,7%) foram negativas para o teste de PCR PGMY. Dentre as amostras normais na citologia, 11 (28,2%) tiveram resultado positivo e 28 (71,8%) tiveram resultado negativo para o teste de PCR PGMY.

O teste de PCR PGMY apresentou uma sensibilidade de 76,6% (58/77) e o valor preditivo positivo (VPP) foi 89,2% (58/65). E a especificidade dessa técnica foi de 71,8% (28/39) e o valor preditivo negativo encontrado foi de 54,9% (28/51).

Utilizando o teste de Cohen, foi obtido o índice Kappa que reflete a concordância entre a PCR PGMY e o teste citopatológico.

co. O valor de Kappa encontrado foi de 0,74 (86/116), demonstrando uma boa concordância.

## DISCUSSÃO

A infecção por HPV genital é a doença sexualmente transmitida mais diagnosticada em populações de jovens sexualmente ativos. Muitas mulheres são infectadas pelo HPV, mas grande parte das infecções é transitória. A persistência da infecção associada com outros fatores de risco pode resultar em câncer de colo de útero. A detecção e tratamento precoces de lesões pré-malignas causadas por HPV podem prevenir a progressão ao câncer<sup>4</sup>.

A reação em cadeia por polimerase (PCR) é capaz de detectar a presença de DNA viral nas amostras de esfregaço cervical. Existem diversos protocolos para a PCR, mas os mais utilizados são aqueles onde ocorre amplificação de regiões conservadas do genoma viral, como o gene L1 ou o gene E1, para a detecção de vários tipos de HPV genitais relevantes em uma única reação, através do uso de diferentes tipos de *primers* degenerados<sup>4</sup>.

Dois pares de primers são os mais utilizados, o par de *primers* MY09/MY11 capaz de identificar mais de 25 genótipos de HPV<sup>9</sup> e par de oligonucleotídeos PGMY09/PGMY11, que se trata de uma mistura de 18 *primers* diferentes (cinco *primers* PGMY11 + um *primer* HMBO e 12 *primers* PGMY09), com a finalidade de eliminar as degenerações e melhorar a sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade de outros *primers* que amplificam regiões conservadas do gene viral L1, através da produção de amplicons de 450 pb<sup>10</sup>.

Alguns estudos afirmam que o *primer* PGMY apresenta maior sensibilidade na amplificação do DNA do HPV em amostras genitais do que o par de *primers* MY. Isto porque, nesta nova formulação todos os diferentes *primers* são adicionados à mistura de reação na mesma concentração, eliminando risco de falsos-negativos, que ocorriam no PCR MY, por competição de *primers*, principalmente em casos de infecções múltiplas<sup>9-11</sup>.

Nosso estudo analisou a eficiência dos *primers* MY e PGMY em detectar o DNA do HPV em amostras de esfregaço cervical e comparou esses resultados com a citopatologia dessas amostras a fim de verificar se realmente o par de *primers* PGMY apresentava maior sensibilidade em relação ao par MY e qual a importância clínica desse achado.

As amostras selecionadas foram agrupadas de acordo com o resultado do teste de Papanicolaou. Nas amostras classificadas como normal/inflamatório, observamos uma concordância de 75% nos resultados dos dois pares de *primers*. Observamos seis negativas para a PCR PGMY foram positivas para a PCR MY (Tabela 2). Esses resultados refletem uma discrepância com aqueles encontrados na literatura, que afirmam ser a PCR PGMY mais sensível na detecção do DNA viral do que a PCR MY<sup>10</sup>. Esse achado pode significar que apesar de ser muito sensível, o par de *primers* PGMY não apresenta 100% de sensibilidade, portanto poderiam ocorrer algumas perdas na detecção da infecção. Por outro lado, podem ter ocorrido falsos-positivos durante a PCR MY. Finalmente, como a citologia classifica essas amostras como normais (sem lesão), mesmo que a reação realizada como par de *primers* MY esteja correta e aponte infecção pelo HPV, esta não apresenta relevância clínica, pois não vai modificar a conduta do

médico. Por serem dados conflitantes, todas as reações das amostras normais/inflamatórias foram repetidas e confirmadas.

As amostras classificadas como ASCUS apresentaram 100% de concordância entre os dois *primers*, não apontando nenhuma vantagem no emprego do novo par de *primers* PGMY. É interessante observar que do total de 11 amostras, cinco foram positivas e seis foram negativas para os dois pares de *primers* (Tabela 2), resultado que está de acordo com literatura que afirma que aproximadamente 30 a 50% dos casos de ASCUS estão relacionados com o HPV<sup>4</sup>. Segundo Burd (2003), uma das vantagens da associação da detecção molecular dos HPV com a citologia é auxiliar o diagnóstico de mulheres que apresentaram estes resultados indeterminados na triagem cervical comum.

Uma concordância de 88,6% foi encontrada entre os resultados das duas PCR nas amostras agrupadas como LSIL/HPV pelo teste de Papanicolaou. De 35 espécimes, quatro apresentaram resultados discordantes, sendo negativas para o MY e positivas para o PGMY (Tabela 2), refletindo uma maior sensibilidade deste na detecção do DNA viral nesse grupo, fato que condiz com os relatados na literatura, durante comparação dos dois *primers*, permitindo a detecção precoce mais eficiente de lesões que podem progredir para câncer cervical, podendo assim contribuir para a prevenção da transformação maligna por auxiliar o clínico na escolha de acompanhamento e tratamento mais adequados.

No grupo classificado como HSIL/CA onde se observa uma concordância de 88,1%, de 42 amostras, cinco foram negativas para a PCR MY e positivas para a PCR PGMY (Tabela 2), demonstrando uma maior sensibilidade do par de *primers* PGMY que apresenta-se coerente com a citologia desse grupo que se trata de uma citologia alterada. Esse resultado não tem repercussão clínica, pois nota-se a presença de lesão de alto risco ou câncer independente de ser HPV positivo ou negativo, mas corrobora a ideia de maior sensibilidade com maior concordância com a citologia.

Analisando somente os resultados das duas PCR, sem considerarmos a citopatologia, observamos uma concordância de 86,2% (Tabela 2) após ser realizado o teste de Cohen (índice Kappa) que reflete uma concordância muito boa entre os resultados obtidos pela execução da PCR com os dois *primers*.

Através da análise dos resultados observamos que, das 116 amostras avaliadas em nosso estudo através do exame de Papanicolaou, 77 apresentaram citologia alterada (66,4%), englobando as alterações citológicas do tipo HPV, LSIL, HSIL e CA; e 39 apresentaram citologia normal (33,6%), sendo classificadas como normais, inflamatórias ou ASCUS.

Comparando estes resultados com a PCR, observamos algumas discrepâncias. Os resultados negativos obtidos pelo método molecular, em contraposição à citologia positiva podem ter sido ocasionados por utilização de amostragem com baixa celularidade, uma vez que o material reservado para o teste molecular trata-se da segunda coleta da paciente em um mesmo momento; ocorrência de falsos-negativos por não ser um método com 100% de eficácia, havendo perdas durante a extração do DNA; integração do genoma do vírus no genoma da célula hospedeira o que impede a amplificação do material viral, devido ao fato de nesses casos ocorrerem a inativação do gene E2 e, assim, o gene L1 não pode ser codificado e como tanto o *primer* MY quanto o

**Tabela 1.** Composição da mistura de reação da PCR genérica.

Quantidade		Componente
5 µL		Tampão de PCR 10X
3 µL	50 mM	Cloreto de magnésio (MgCl <sub>2</sub> )
1 µL	200 µmol	Nucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)
1 µL	50 pmoles	Oligonucleotídeos MY 09 ou PGMY 09
1 µL	50 pmoles	Oligonucleotídeos MY 11 ou PGMY 11
0,1 µL	5 pmoles	Oligonucleotídeos Ac 1
0,1 µL	5 pmoles	Oligonucleotídeos Ac 2
0,25 µL	0,25 unidades	Taq polimerase
	µL	Amostra
	qsq. 50µL	Água

**Tabela 2.** Resultados de PCR

	PGMY		MY		Concordância
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	
<b>Normal/Inflamatório</b>	22	6	17	11	75%
<b>ASCUS</b>	6	5	6	5	100%
<b>LSIL/HPV</b>	10	25	14	21	88,6%
<b>HSIL/CA</b>	9	33	14	28	88,1%
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>69</b>	<b>51</b>	<b>65</b>	

**Tabela 3.** Sensibilidade e especificidade PCR MY vs. citologia.

		Citologia		
		Positiva (Alterada)	Negativa (Normal)	Total
PCR MY	<b>Positivo</b>	49	16	65
	<b>Negativo</b>	28	23	51
	<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>39</b>	<b>116</b>

**Tabela 4.** Sensibilidade e especificidade PCR PGMY vs. citologia.

		Citologia		
		Positiva (Alterada)	Negativa (Normal)	Total
PCR PGMY	<b>Positivo</b>	58	11	65
	<b>Negativo</b>	19	28	51
	<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>39</b>	<b>116</b>

PGMY amplificam sequências do DNA viral da região L1, não é possível detectar o vírus nesses casos. Podem ainda ter ocorrido, resultados falso-positivos no exame citológico devido à presença de artefatos contaminantes como muco, bactérias, sangue ou por inexperiência do patologista.

Em relação às amostras com citologia normal, 16 foram positivas para a PCR e 23 foram negativas demonstrando que apesar de não apresentar alterações citológicas, existe a presença do DNA viral nas amostras. Tal fato pode ser devido a uma infecção latente ou transitória assintomática, irrelevantes clinicamente, ou ainda que se tratavam de falso-negativos da citologia onde, por exemplo, o escovado cervical pode não ter sido realizado corretamente, impedindo a visualização de alterações citológicas durante a coloração de Papanicolaou.

Nossos resultados mostram uma sensibilidade de 63,7% e VPP de 75,4% para a PCR MY (**Tabela 3**). Para o PGMY, obtivemos resultados melhores: uma sensibilidade de 76,6% e VPP

igual a 89,2% (**Tabela 4**). Assim, nossos resultados confirmam os dados descritos na literatura que afirmam serem os *primers* PGMY09/11 mais sensíveis do que os *primers* MY09/11 e, portanto são melhores para detectar a presença de infecção pelo HPV, em casos clinicamente relevantes<sup>9-11</sup>.

Além disso, observamos uma especificidade e VPN de 59% e 45,1% respectivamente, para a PCR MY (**Tabela 3**) e especificidade de 71,8% e VPN de 54,9% para a PCR PGMY (**Tabela 4**) demonstrando que esse último par de *primers* é realmente mais específico, apontando casos clinicamente relevantes e auxiliando na classificação de pacientes de risco para que sejam solicitados exames de tipagem, a fim de detectar possíveis vírus oncogênicos. É importante ressaltar que a presença destes vírus poderá determinar um *follow-up* mais adequado, com visitas mais frequentes das pacientes de risco ao ginecologista.

Através da realização do teste de Cohen, foi obtido o índice de Kappa que visa determinar os índices de concordância entre o

teste molecular (PCR) e a citopatologia e observamos que os dois tipos de *primers* apresentam uma concordância boa, com valores de Kappa de 0,62 para a PCR MY e um pouco maior (0,74) para a PCR PGMY. Portanto, podemos concluir que o método molecular e o Papanicolaou se completam na detecção viral, sendo que o par de *primers* PGMY apresenta uma melhor sensibilidade, especificidade do que o par de *primers* MY.

Como já descrito por Villa (2002), a padronização e utilização dos testes de PCR cada vez mais eficazes ajudariam na identificação de tipos de HPV e na busca do tratamento mais adequado a ser adotado pelo médico a fim de prevenir efetivamente o câncer cervical, principalmente nas pacientes infectadas por HPV de maior potencial oncogênico.

Através desse trabalho concluímos que o par de *primers* PGMY apresenta maior sensibilidade e especificidade na detecção do DNA do HPV quando comparado com o par de *primers* MY, apesar de não ser um método 100% eficaz, podendo admitir algumas perdas, principalmente na detecção de infecções assintomáticas.

## CONCLUSÃO

Assim, concluímos que o novo par de *primers* PGMY09/11 deve substituir o antigo MY09/11 para melhorar a detecção genômica de HPV e contribuir de maneira mais eficiente para prevenção do câncer cervical.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Snijders PJ, Steenbergen RD, Heideman DA, Meijer CJ. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J Pathol* 2006; 208(2): 152-64
2. Marc S, Duarte-Franco E. Human papillomavirus infection: epidemiology and pathophysiology. *Gynecologic Oncology* 2007; 107: S2-S5.
3. Munoz N, Castellsague X, De Gonzalez AB et al. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine* 2006; 24S3: S1-S10.
4. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clinical Microbiology Reviews* 2003; 16(1): 1-17.
5. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348(6): 518-527.
6. Ho GYF, Bierman R, Bearsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal Papillomavirus infection in young women. *New Eng J Med* 1998; 338: 423-428.
7. Schiffman MH. Recent progress in defining the epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1992; 18: 84(6): 394-8.
8. Zanotti KM & Belinson J. Update on the diagnosis and treatment of Human papillomavirus infection. *Cleveland Clinical Journal of Medicine* 2002; 69 (12): 948-961.
9. Giovannelli L, Lama A, Capra G, et al. Detection of human papillomavirus DNA in cervical samples: analysis of the new PGMY-PCR compared to the hybrid capture II and MY-PCR assays and a two-step nested PCR assay. *Journal of Clinical Microbiology* 2004; 42(8): 3861-3864.
10. Gravitt PE, Peyton CL, Alessi TQ et al. Improved amplification of genital human papillomaviruses. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38(1): 357-361.
11. Coutlée F, Gravitt P, Kornegay J, Hankins C, Richardson H, Lapointe N, Voyer H. The Canadian Women's HIV Study Group, Franco, E. Use of PGMY Primers in L1 Consensus PCR Improves Detection of Human Papillomavirus DNA in Genital Samples. *Journal of Clinical Microbiology* 2002; 40 (3): 902-907.
12. Villa LL, Bernard HU, Kast M, Hildesheim A, Amestoy G, Franco EL. Past, present, and future of HPV research: highlights from the 19th International Papillomavirus Conference-HPV2001. *Virus Res* 2002; 89(2): 163-73.

### Endereço para correspondência:

**SILVIA MARIA BAETA CAVALCANTI**

Laboratório de Diagnóstico Viroológico, MIP/UFF.

Rua Professor Hernani Melo 101 sala 321. Centro, Niterói, RJ.

CEP: 24210- 130

E-mail: silviacavalcanti@vm.uff.br

Recebido em: 02/07/2008

Aprovado em: 17/10/2008

# EVALUATION OF THE COMBINED USE OF PAPANICOLAOU SCREEN TEST AND THE POLYMERASE CHAIN REACTION FOR THE IDENTIFICATION OF PATIENTS AT RISK OF CERVICAL CANCER

## *AVALIAÇÃO DO USO COMBINADO DO TESTE DE TRIAGEM DE PAPANICOLAOU E DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE PARA IDENTIFICAÇÃO DE PACIENTES EM RISCO DE CÂNCER CERVICAL*

*Natalia Moysés<sup>1</sup>, Daniela S Balthazar<sup>2</sup>, Larissa A Afonso<sup>1</sup>, Ledy HS Oliveira<sup>3</sup>,  
Silvia Maria B Cavalcanti<sup>4</sup>*

### ABSTRACT

**Introduction:** in the last few years, the interest on Human Papillomavirus (HPV) has emerged due to the evidence of their carcinogenic potential, especially on the female genital tract. In the last fifty years, the screening diagnosis has been carried out by Papanicolaou test (Pap). Nevertheless, literature describes a high rate of false-negative and false-positive samples. **Objective:** since an early detection is crucial to diminish the risk of cervical cancer, we aimed to analyze the use of HPV DNA detection by PCR as complementary test to routine screening. **Methods:** nearly 450 female smears were obtained from the DNA Bank of the Virological Diagnosis Laboratory from UFF. HPV prevalence was evaluated by using MY09/11 consensus primers and was compared to Pap test. **Results:** our results showed that 67.5% of the studied samples were normal tissues, among them 85.6% were negative by PCR but 14.4% were HPV infected. The remaining 32.8% were altered by Pap test. Among them, HPV DNA detection by PCR revealed a prevalence of 56.7% in ASCUS, 87.5% in LSIL and 66,6% in carcinoma. Kappa index showed a good agreement between tests (0.80). The Positive Predictive Value was considered low (58%) pointing out that important cases may be misdiagnosed as false-negatives. On the other hand, the Negative Predictive Value was considered high (90,5%) indicating that PCR should not be used as a screening test, but as a complementary one, revealing true negatives when associated to a normal result in Pap test. HPV positive samples detected by MY PCR were typed and the prevalence obtained for the different types was: 48% HPV 16, 17% HPV 33, 13% HPV 18, 18% HPV 6 and 19% were undetermined because of non tested primers or technical problems. **Conclusion:** analyzing the results we concluded the combination of both tests is the best diagnostic procedure, allowing a more efficient evaluation of cancer risk and thus helping in prevention programs.

**Keywords:** HPV, PCR, citopathology, cancer, STD

### RESUMO

**Introdução:** nos últimos anos, o interesse pelo estudo dos papilomavírus humanos (HPV) aumentou, uma vez demonstrada a evidência de seu potencial oncogênico, especialmente no trato genital feminino. A partir de 1950, o rastreamento das lesões genitais foi feito pelo teste de Papanicolaou (colpocitologia oncológica). Entretanto, a literatura o atribui altas taxas de falso-positivos e negativos. **Objetivo:** uma vez que a detecção precoce é crucial para prevenção do câncer cervical, analisamos o uso do PCR para detecção do DNA do HPV como teste complementar à atual rotina diagnóstica. **Métodos:** cerca de 450 esfregaços cervicais foram obtidos do banco de amostras do Laboratório de Diagnóstico Viroológico da UFF. A prevalência do HPV foi avaliada pelo uso de *primers* consensuais MY09/11. **Resultados:** nossos resultados mostraram que 67,5% das amostras eram normais e dentre elas, 85,6% eram negativas pelo PCR, mas 14,4% estavam infectadas. As 32,5% amostras restantes tinham preventivo alterado e com alta prevalência de infecções por HPV, oscilando de 56,7% em ASCUS a 87,5% em LSIL. O índice Kappa apresentou boa concordância entre os testes (0,80). O valor preditivo positivo foi baixo (58%) indicando que casos relevantes podem ser subdiagnosticados como falso-negativos. Por outro lado, o valor preditivo positivo foi elevado (90,5%) revelando que o PCR, embora não deva ser usado como método de triagem, tem importante papel complementar ao preventivo, apontando os verdadeiros negativos, quando associado à colpocitologia oncológica normal. Amostras positivas para HPV pelo PCR-MY foram tipadas e a prevalência obtida revelou 48% HPV 16, 17% HPV 33, 13% HPV 18, 18% HPV 6 e 19% de HPV indeterminados. **Conclusão:** nossos resultados indicam que o uso combinado de ambos os testes parece ser a conduta diagnóstica mais adequada, permitindo avaliação eficiente do risco de câncer e assim colaborar em programas de prevenção.

**Palavras-chave:** HPV, PCR, citopatologia, câncer, DST

## INTRODUCTION

Cervical cancer is still the second cause of death from cancer in women worldwide. Each year, nearly 470,000 new cases of invasive cervical cancer are diagnosed and approximately 233,000 women die of this disease<sup>1</sup>. In Brazil, high rates of incidence and prevalence are recorded and the establishment of the

disease has presented earlier in the female population in the last two decades<sup>2</sup>.

Cervical cancer is preceded by a long period of pre-malignant lesions termed cervical intraepithelial neoplasia (CIN) or squamous intraepithelial lesions (SIL), that are classified into several grades (CIN I or Low SIL; CIN II/III or High SIL). In principle, these lesions are reversible, although the more severe the lesion, the lower chance of spontaneous regression. Cervical cancer is considered a preventable disease because it can be precociously detected by exfoliative cytology and treated when necessary, with minor side effects. Currently, cervical screening is based on cytology only. However, cytology is subject to a substantial degree of false-negative and false-positive results, leading to missed cases

<sup>1</sup>Aluna de PIBIC da Biomedicina/Universidade Federal Fluminense.

<sup>2</sup>Biomédica/UFF.

<sup>3</sup>Professora titular da Disciplina de Virologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia/UFF.

<sup>4</sup>Professora associada da Disciplina de Virologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia/UFF.

of HSIL and cancer as well as to redundant follow-up and referrals to gynecologist<sup>3</sup>.

## OBJECTIVE

Since infection with high risk human papillomavirus types (hrHPV) is a necessary cause of cervical cancer, screening might become more efficient when it is based on combined cytology and hrHPV testing<sup>4</sup>. This study aimed to verify the veracity of such hypothesis.

## METHODS

### Studied samples

We studied 443 DNA cervical samples obtained from the DNA Bank of the Virological Diagnosis Laboratory from Universidade Federal Fluminense and were recorded from 2000 to 2007.

### Cytologic Test

Papanicolaou test was developed in Saddy Diagnósticos Laboratory and files were gently given to our group. Smears were classified in normal for Normal epithelium, Inflammatory for minor alterations of cervical cells, low grade squamous intraepithelial lesions (LSIL) for low grade neoplasia, high grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) for moderate and severe neoplasia, invasive cancer for malignant neoplasia and ASCUS for Atypical squamous cells of undetermined significance.

### Polymerase chain reaction amplification of generic human papillomavirus

Consensus primers MY09/11, which amplify 450 bp DNA sequences within the L1 region of HPV, were used to detect generic HPV DNA<sup>5</sup>. Amplification was carried out in 50 µl reaction mixture (1X PCR buffer, 200 µM dNTPs, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 50 pmol of each primer, 0.25 U unit of Taq polymerase, and 5 µl of sample) with 35 cycles of amplification. Each cycle included a denaturation step at 94°C for one minute, an annealing step at 55°C for two minutes, and a chain elongation step at 72°C for two minutes using DNA Thermal Cycler (Pekin Elmer, CETUS). The β-actine primers (0.1 pmol each), which amplify a 330 bp region of the human DNA was used as internal control. Polymerase chain reaction (PCR) products were analysed on 1.3% agarose gel with ethidium bromide staining for visualization of DNA under ultraviolet light and their PM determined by comparison with a 100bp DNA ladder.

### HPV typing

HPV typing was done by PCR amplification with primers from the E6 gene DNA sequences of HPV 6, 11 (low risk to cervical cancer) and 16, 18, 31, 33, and 35 (high risk to cervical cancer)<sup>5</sup>. PCR reactions included a denaturing step at 94°C for 30 seconds, 60°C for one minute, and 72°C for one minute. Negative controls for background contamination no added DNA template. The PCR run was completed by extension for ten minutes at 72°C.

## Statistical analysis

The statistical analyses were performed by using the Epi-Info® computer program package (Atlanta, USA). Cohen test, t-Student and Kappa indexes were determined. In all tests, the values of  $p < 0.05$  were regarded as statistically significant.

## RESULTS

In our study, 443 DNA samples from cervical smears were evaluated. The average age of the studied women were 31.3, ranging from 16 to 83 years old. Regarding cytopathology, 67% of the cases presented normal/inflammatory results (**Table 1**). Twenty-two samples presented inconclusive results.

PCR results using consensus MY09/11 revealed that 151 samples were HPV infected (35.3%). **Table 2** presents DNA prevalence according to cytopathology. From the 421 samples diagnosed in cytopathology, 138 had HPV DNA (32.8%). From the 22 inconclusive Pap tests, 13 (59.1%) samples were positive at MY PCR.

According to Pap test, 284 samples were classified as normal/inflammatory and among them, 14.4% were positive by PCR. Regarding ASCUS results, 30 samples were recorded and 56.7% were HPV infected. In samples classified by cytology as suggestive of HPV, 84% were confirmed by PCR. Within the forty cases of LSIL, 87.5% were HPV infected and the 36 HSIL samples presented 55.6% of HPV DNA prevalence. Finally, 6 samples were classified as invasive carcinoma and 66.6% were positive by PCR.

Regarding the 283 cases showing altered cytology 10% were negative in MY PCR, suggesting false-negative in molecular detection of HPV, more probably false-positives in cytology.

After proceeding to MY PCR for HPV screening, 141 positive samples were tested in a second PCR test using specific primers for the most prevalent benign and malignant HPV types. Among them, 89 were high risk types and 11 were low risk types, 13 were multiple infections (**Table 3**). From the 100 typed samples, HPV 16 was the most prevalent type (48%) followed by HPV 33 (17.0%) and HPV 18 (13.0%). Benign HPV 6 prevailed in 11.0% and HPV 11 was only observed in mixed infections, associated to HPV 6. High risk HPV 45 and 58 were detected in 4.0% of the positive samples and HPV 35 in 3%, while HPV 31 was not found at all. Nearly 20% of the samples remained untyped (**Figure 1**). Multiple infections were diagnosed in 13 samples, with a higher prevalence of HPV 16 and 18 (46.2%), followed by HPV 6 and 11 (38.8%) (**Table 3**).

Regarding the 80 samples positive by PCR presenting altered cytology, 77 were typed and 72.7% were high risk HPV, HPV 16 prevailing among the others (48.2%).

From the 41 PCR positive presenting normal cytology 35 cases were typed and 18 were high risk, with a prevalence of 50% for HPV 16. **Table 5** describes the association of HPV types with de cytological results. HPV 16 were detected in 34% of the samples, for all the classified samples.

The evaluation of statistical parameters pointed out that PCR presented a sensibility of 74.8% (80/107) with a Positive predictive value of 58% (80/138). A high specificity of 81.5% (256/314) was detected, with a Negative predictive value of



**Table 1 .** Distribution of cases according to Papanicolaou test results

Samples (n)	Normal	ASCUS	HPV	LSIL	HSIL	Ca
	284	30	25	40	36	6
Prevalence	67,5 %	7,1 %	5,9 %	9,5 %	8,6 %	1,4 %

**Table 2.** HPV DNA detection by PCR according to cytological diagnosis

Cytopathology	HPV prevalence (%)	HPV negative (%)	TOTAL
Normal	41 (14,4)	243 (85,6)	284
ASCUS	17 (56,7)	13 (43,3)	30
HPV	21 (84,0)	4 (16,0)	25
LSIL	35 (87,5)	5 (12,5)	40
HSIL	20 (55,6)	16 (44,4)	36
Ca	4 (66,6)	2 (33,3)	6
Total	138 (32,7)	283 (67,2)	421

**Table 3.** Prevalence of HPV types detected by PCR according to citopathology.

Citology	Typing by PCR												Untyped	Total	
	Types							Multiple Infections							
	6	16	18	33	35	45	58	6 e 11	16 e 18	16 e 33	33 e 45	33 e 58			
Normal	2	9	4	3	2			1						14	35
ASCUS		10	1	1					1			1		2	16
HPV	3	8	2	2			1	2	1					2	21
LSIL	6	12	3	3	1		2	1	2	1				4	35
HSIL		5	3	4					2		1			2	17
Carcinoma		2				1								1	4
Inconclusive		2		4		3	1							3	13
Total	11	48	13	17	3	4	4	4	6	1	1	1		28	141

**Table 4.** PCR sensibility and specificity according to cytology

PCR	Citology			
		Positive (Altered)	Negative (Normal)	Total
	Positive		80	58
Negative		27	256	283
Total		107	314	421

90,5% (256/283). Cohen test was developed in order to analyze the tests agreement rates and the resulting Kappa index was considered good (0.80, 336/421) (Table 4).

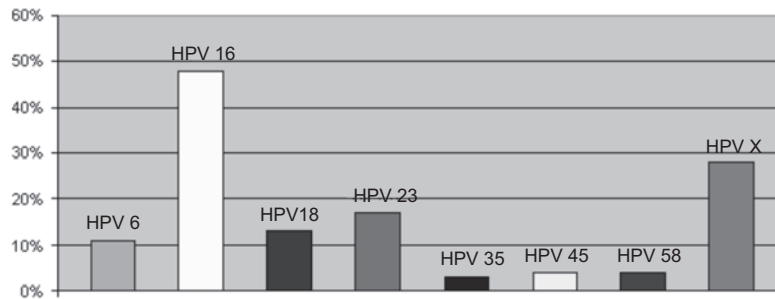
## DISCUSSION

Cervical cancer is a long multiple-step process that eventually leads to invasion. The natural history shows that 10 to 20 years are required to complete tissue transformation. Hence the detection of precursor lesions can determine efficient treatment and control of this neoplasia. Nevertheless, Brazil presents high cancer incidences<sup>6</sup> and cancer progression can occur in nearly 30% of cases associated to hrHPV<sup>7</sup>. Only prece diagnosis extended to whole female population showed to be efficient worldwide<sup>8</sup>. This early diagnosis pointing abnormal cervical cells is obtained by Pap test: a simple, easy and inexpensive procedure. This

method was elected the screening test for general population and in countries where it was properly applied; it resulted in a 75% reduction in cancer incidence rates<sup>9,10</sup>.

But the test presents limitations: inadequate samples constitute 5% to 10% of the material received by cytopathology laboratories. The low sensibility to detect premalignant lesions as well as the subjectivity of results interpretation are also relevant questions. High rates of false-positive and false-negative results, ranging from 20 to 30%, have been described<sup>8</sup>. Hence patients can eventually develop cancer and reach death<sup>11</sup>.

Hence, complementary tests have been developed in order to increase efficiency of screening programs for cervical prevention, identify women presenting or in risk of developing high grade lesions (HSIL and Ca), diagnose truly negative results, improve ASCUS diagnosis and check therapy response<sup>12</sup>.



**Figure 1.** Prevalence of HPV types.

According to Brink<sup>4</sup>, PCR is the best novel procedure to identify patients at risk for HPV cervical cancer. The other available technique, the hybrid capture assay presents the disadvantage of cross-reactions between low and high risk virus. Regarding the consensus PCR results obtained in this study, we observed a HPV prevalence of 34.1% (151/443), pointing out a high prevalence of infection in the studied population. These were already expected results, since part of the group were clinically directed to the search of HPV on previous detected cervical lesions. By relating cytology and PCR results, we observed the increase in the severity of the lesions related to the increase in the hrHPV DNA detection. In **Table 2**, we can observe this positive relation. It is interesting to notice that normal cytology was related to 85.6% of PCR negative results. However, the other 14.4% were positive by molecular testing. We can argue if they were false negative by cytology but we know PCR is a highly sensitive technique that can detect latent virus and thus may be showing clinically irrelevant infections. According to previous studies, 10 to 15% of the cytological normal women can present HPV DNA.

Regarding HPV prevalence in ASCUS cases, 56.7% of positive MY were detected, and literature describes ASCUS as possible HSIL in 10% of the women<sup>8</sup>.

Among smears suggestive of HPV, viral DNA was detected in 84.0% of the cases by PCR. This is an expected result, since pathognomonic alterations are described by cytology, as koilocytosis and dyskeratosis. On the other hand, 16% of the samples classified as HPV were negative by PCR MY. These results might be due either to low cellularity of the sample used to DNA extraction or to DNA degradation. We can also suggest cytology false-positive results.

In LSIL cases HPV DNA was detected in 87.5% of the samples while in HSIL, detection felt to 55.6% (**Table 3**). Molecular testing of cancer samples can be difficult once these are lesions difficult to detect, such as microcarcinoma or microinvasive cancer. DNA integration can also result in genomic loss and false-negative MY PCR<sup>14</sup>.

Among the 6 squamous cell carcinoma, 4 (66.6%) presented viral DNA. Again, integration, as well as sample contaminants as blood as cell debris can result in poor amplification in consensus PCR. Finally, PCR although specific and sensible depends on sample collection, proper conservation and transport, contaminants that can interfere and reduce viral detection.

From the 141 HPV typed samples, 69.5% (98/141) had oncogenic viruses alone or in multiple infections. Hence, such women can be regarded as a risk group for cancer development, requiring medical surveillance and close examination, including colposcopic evaluation and reduced follow-up intervals.

HPV 16 was the prevalent type (34%, 48/141). In 28 samples, HPV was not typed and perhaps represent new circulating types that are not composing our pool of testing primers. Camara *et al*<sup>2</sup> have already chosen that nearly 10% of HPV cases are undetermined even by RFLP of sequencing methods.

It is noticeable that HPV 31 was not found in our sample is in agreement with studies from Carestiatto *et al*<sup>13</sup>, that confirms the low circulation rate among our patients. On the other hand, nearly 10% of HPV 31 infection are detected in samples from Brazilian central region<sup>2</sup> and in Europe<sup>14</sup>.

PCR typing of normal cytology smears revealed 18 cases of oncogenic HPV infections, 2 benign HPV 6 and 1 multiple benign infection harboring HPV 6 and 11. Among oncogenic types, HPV 16 was the most prevalent (50%), followed by HPV 18 (22.2%), 33 (16.6%) and 35 (11.1%) (**Figure 1**). As reported by Brinks *et al*<sup>4</sup>, such infections may represent a relative risk of development of neoplastic lesions, requiring precocce follow-up. Women over 35 years old, presenting oncogenic HPV infection are considered the high risk group for cancer, even in the absence of cervical lesions, and must be clinically followed at 4 month intervals, as proposed by CDC Working Group<sup>15</sup>.

Analyzing ASCUS samples, we observed that only oncogenic virus were detected and HPV16 was the most prevalent (62.5%). Although not related to HPV infection, an ASCUS result can be represent a HSIL (specially the difficult detecting microcarcinoma) misdiagnosed in 10% of the cases and are described in literature as ASC-H (high risk ASC). Molecular testing can help revealing the risk and thus redirect the patient to a new test or a colposcopy.

Cytology classified as suggestive of HPV revealed high risk HPV 16 in 38% of the cases, similar to the one found in LSIL (34.3%). As described by Brink<sup>4</sup>, the negative predictive value of molecular testing is of 99%, for both HPV and LSIL results, indicating that there are no high grade lesions when they are negative to high risk HPV. On the other hand, women positive for high risk types should be immediately directed to colposcopic biopsy and retesting after 6 months. Hence the combined use of Pap test

and HPV detection would allow a closed diagnosis, helping clinic management of patients.

Regarding HSIL and Ca patients, only hr HPV were found, an expected result, due to its role in cancer development. Once more, 16 was the most common type (29.4%), followed by 33 (23.5%) and 18 (17.6%) in HSIL and by HPV 45 (25%) in Ca cases (Table 3). HPV detection in cancer cases has an impact in research data since clinical conduct will not be altered by PCR result.

It is worth noting that the 13 samples presenting inconclusive results but showing HPV infection, presented hr HPV in 76.9% of the samples, indicating the need of early repetition of the Pap test.

We might point out that new molecular methods to HPV detection might have an unbalance between analytical and clinical evaluation. PCR have a high analytical power but can reveal latent or transient infections clinically irrelevant. On the other hand, misdiagnosis common in Pap test can result in loss of important pathologies that can eventually result in cancer<sup>4</sup>.

Our results showed that the sensibility of the PCR test was low (74.8%), with an unsatisfactory PPV (58.0%). These data point to the fact that PCR should not be used alone but combined to other screening methods, once it can lose important lesions (low clinical evaluation level) although presenting a high analytical power. This important losses observed might be due to degradation of genetic material, deletion of HPV genes due to integration, leading to false negative in PCR-MY<sup>13</sup>.

But our data also points out a high specificity in PCR testing (81.5%) as well as the NPV (90.5%), reassuring its use to elucidate Pap test controversial results. In conclusion, although a few cases were negative by PCR when Pap test showed a SIL, when PCR is positive, the chance of presenting clinical relevant lesions is high, mainly in women older than 35 years old.

In our study, Cohen test to determine agreement index between PCR and Pap test were 0.80: a good result, certifying PCR as a good complement to cytology in order to elucidate inconclusive smears (5%), ASCUS and associated risk of HPV and LSIL.

Although molecular testing is an expensive and laborious procedure, preliminary analysis recommends the combined use for specific cases, pointing to a 100% of efficiency increase<sup>16</sup>. Especially, in cases with ASCUS result and altered cytology in older women<sup>4</sup>. Hence combined use can be an important tool for improving cervical cancer screening.

## CONCLUSION

We concluded the combination of both tests is the best diagnostic procedure, allowing a more efficient evaluation of cancer risk and thus helping in prevention programs.

## REFERENCES

1. Bosch FX & Sanjosé S. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer – Burden and assessment of causality. *J Nat Can Inst Monogr* 2003; 31: 3-13.
2. Camara GNL, Cerqueira DM, Oliveira APG, Silva EO, Carvalho LGS, Martins CRF. Prevalence of human papillomavirus types in women with pre-neoplastic and neoplastic cervical lesions in the Federal District of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; 98: 879-883.
3. Sherman, M.E. Future directions in cervical pathology. *J Nat Cancer Inst Monogr* 2003; 31: 72-79.
4. Brink, A.A.T.P.; Zielinski, G. D.; Steenbergen, R.D.M.; Snijders, P. J. F.; Meijer, C. J. L. M. Clinical relevance of Human papillomavirus testing in cytopathology. *Cytopathology* 2005; 16: 7-12.
5. Oliveira, L.H.S.; Rodrigues, E.V.; Salles, L.A.P; Fernandez, A.P; Cavalcanti, S.M.B. HPV 16 detection in cervical lesions, physical state of viral DNA and changes in p53 gene. *São Paulo Med J* 2003; 121 (2):67-71.
6. INCA. Câncer cervical, Ministério da Saúde, INCA, 2006. Disponível em <http://www.inca.gov.br>
7. Cavalcanti, S.M.; Zardo, L.; Passos, M.R.L.; Oliveira, L.H.S. Epidemiological aspects of Human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil. *J Infect* 2000; 40 (1): 80-87.
8. Burd, E. M. Human papillomavirus and Cervical Cancer. *Clin Microbiol. Rev.* 2003; 16 (1): 1-17.
9. Schiffman, M. H.; Brinton, L. A.; The epidemiology of cervical carcinogenesis. *Cancer* 1995; 76:1888-901.
10. Jemal, A.; Thomas, A.; Murray, T.; et al. *Cancer Statistics 2002*, CA. *Cancer J Clin* 2002; 52: 23-47.
11. Morrison, H. Human papillomavirus absence predicts normal cervical histopathologic findings with abnormal papanicolaou smears. *J Hum Virol* 1993; 4: 283-287.
12. Molijn, A.; Kleth, B; Quint, W.; van Doorn, L.J. Molecular diagnosis of human papillomavirus infection. *J Clin Virology* 2005; 23S:43-51.
13. Carestiatto, F.N.; Carvalho, M.O.O.; Ribeiro, M.O.; Barbosa, F.M.; Silva, L.E.; Dimetz, T.; Oliveira, L.H.S. & Cavalcanti, S.M.B. Estudo das infecções causadas por papilomavírus humanos em pacientes do sexo feminino detectadas pela técnica de captura do híbrido: levantamento de casos. *J Bras Doenças Sex Transm* 2002; 14: 9-12.
14. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PFJ, Anh PTH, Ferrecio C, Hieu NT, Franceschi S et al for IARC group. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in IARC: a pooled-analysis. *Lancet* 366: 991-998, 2005.
15. CDC - Centers for Disease Control and Prevention - Prevention of Genital Human papillomavirus Infection. Gerberding, J.L. (Director) Department of Health and Human Services. Report to Congress 2004.
16. Bosch, F.X.; Roham, T.; Schneider, A.; et al. Papillomavirus research update: highlights of the Barcelona HPV 2000 International Papillomavirus Conference. *J Clin Pathol* 2001; 54: 163-175.

### Endereço para correspondência:

**SILVIA MARIA BAETA CAVALCANTI**

Laboratório de diagnóstico Viroológico  
Departamento de Microbiologia e Parasitologia da  
Universidade Federal Fluminense  
E-mail: [silviacavalcanti@vm.uff.br](mailto:silviacavalcanti@vm.uff.br)

Recebido em: 19/08/2008

Aprovado em: 01/10/2008

# ASSOCIAÇÃO ENTRE ÍNDICE DE CÉLULAS CD4 E ALTERAÇÕES GINECOLÓGICAS EM MULHERES HIV-POSITIVO

## ASSOCIATION BETWEEN CD4 SEROLOGICAL LEVELS AND GYNECOLOGICAL PROBLEMS AMONG HIV + WOMEN

Renata M Rosenthal<sup>1</sup>, Mariângela F Silveira<sup>2</sup>, Vera Maria A Brum<sup>2</sup>

### RESUMO

**Introdução:** a literatura mostra maior prevalência de persistência da infecção por HPV, alterações displásicas do colo uterino e infecções cervicovaginais em pacientes HIV+ possivelmente devido à imunodeficiência. **Objetivo:** relacionar a gravidade de lesão cervical diagnosticada por exame citopatológico, infecção por HPV e infecções genitais à contagem de células CD4 em pacientes HIV-positivo. **Métodos:** estudo transversal com revisão de prontuários de 383 pacientes soropositivas do Ambulatório de Ginecologia do Serviço de Assistência Especializada em HIV/AIDS da Universidade Federal de Pelotas (SAE-UFPel). As pacientes foram distribuídas pelo índice de CD4 em quatro grupos: < 100 células/mm<sup>3</sup>, entre 101- 250 células/mm<sup>3</sup>, entre 251-350 células/mm<sup>3</sup> e > 351 células/mm<sup>3</sup>. Para a análise foi considerado para significância estatística um P valor < 0,05. **Resultados:** das 358 pacientes com registro de citopatológico, 22 (6,15%) apresentaram exame alterado. A associação de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) com valores baixos de CD4 não foi significativa, assim como não foi possível demonstrar associação entre presença de lesão por HPV, herpes genital, vaginose bacteriana, e infecções por cândida com valores baixos de linfócitos CD4. **Conclusão:** embora a literatura descreva uma associação entre o grau de displasia cervical e a prevalência de infecções por HPV com a baixa contagem de células CD4, não encontramos evidência desta associação no presente estudo. O mesmo ocorreu com a presença de infecções cervicovaginais. Uma explicação talvez seja o fato de grande parte da amostra estudada ser de pacientes em uso de drogas antirretrovirais.

**Palavras-chave:** neoplasia intraepitelial cervical, infecções por HIV, HPV, DST, mulheres

### ABSTRACT

**Introduction:** literature shows a larger prevalence of HPV persistent infection, displasic uterine cervical lesions and cervicovaginal infections among HIV+ women possibly due to immunodeficiency. **Objective:** to correlate the severity of cervical lesions diagnosed by cytological cervical smear, HPV infection and cervicovaginal infections to CD4 cells count among HIV+ patients. **Methods:** a cross-sectional study accessing clinical records from 383 HIV+ women treated at the Gynecologic HIV/AIDS Clinic from the Federal University of Pelotas. Patients were distributed in 4 groups according to CD4 count: < 100 cells/mm<sup>3</sup>, 101-250 cells/mm<sup>3</sup>, 251-350 cells/mm<sup>3</sup> and > 351 cells/mm<sup>3</sup>. A P-value < 0.05 was used for statistic significance. **Results:** 22 (6,15%) of the 358 patients with known cervical cytological results had a positive test. The association of squamous intraepithelial neoplasia (SIN) and low CD4 values was not significant. We could not find association between HPV infection, genital herpes, bacterial vaginosis, and yeast infections with low CD4 values either. **Conclusion:** Although literature suggests an association between grade of cervical displasia and the prevalence of HPV infection and low CD4 cells count, we could not find evidence of this association in our population. The same occurs with the presence of cervicovaginal infections. A possible explanation was that a large number of women in our sample were using antiretroviral drugs.

**Keywords:** cervical intraepithelial neoplasia, HIV infections, HPV, STD, women

## INTRODUÇÃO

A epidemia do HIV vem aumentando entre as mulheres, especialmente entre as mais jovens. Em 1985 havia 15 casos da doença em homens para 1 em mulheres. Hoje, a relação é de 1,5 para 1. Na faixa etária de 13 a 19 anos, há inversão na razão de sexo, a partir de 1998. Em 2004, o Ministério da Saúde estimou que no Brasil cerca de 593 mil pessoas, entre 15 a 49 anos de idade, vivem com HIV e AIDS (0,61%). Deste número, cerca de 208 mil são mulheres (0,42%).<sup>1</sup>

A literatura mostra que há maior prevalência de persistência da infecção por HPV, alterações displásicas do colo uterino e infecções cervicovaginais em pacientes HIV-positivo. A contagem de células CD4 tem sido o marcador de imunodeficiência e sua depleção indicaria deficiência grave na imunidade celular e alto desenvolvimento de neoplasia cervical intraepitelial (NIC) e infecções. Palefsky *et al.* em estudo realizado com 1.778 mulheres HIV-positivo e 500 mulheres HIV-negativo nos Estados Unidos<sup>2</sup> e Delmas *et al.* em estudo realizado com 485 mulheres

HIV-positivo em 12 países da Europa<sup>3</sup>, mostraram haver maior risco de infecção por HPV e maior prevalência de NIC em pacientes com contagem de células CD4 abaixo de 200 células/mm<sup>3</sup>. Os estudos de Strickler HD *et al.* realizados com 1.848 mulheres HIV+ e 514 mulheres HIV-, nos Estados Unidos, também demonstraram tal associação.<sup>4</sup>

No entanto, alguns estudos evidenciam que nem sempre o grau de displasia se revela diretamente relacionado ao grau de imunossupressão. Estudos recentes, realizados na África, encontraram frequência significativamente aumentada de alterações celulares e maior prevalência da lesão escamosa intraepitelial nas soropositivas, quando comparadas com as soronegativas. Contudo, não foi encontrada associação entre a gravidade das neoplasias cervicais e a imunossupressão das pacientes.<sup>5,6</sup>

Zimmermann *et al.*, em estudo realizado com 87 pacientes infectadas pelo HIV na cidade de Belo Horizonte, também não encontrou associação entre a contagem de células CD4 e a gravidade da lesão intraepitelial do colo uterino, diagnosticada pelo exame histopatológico.<sup>7</sup> Estudo realizado pelo Serviço de Patologia do Trato Genital Inferior da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP-EPM), com 115 pacientes HIV+, não demonstrou associação de NIC à contagem de linfócitos CD4.<sup>8</sup>

Vários estudos demonstraram que, em mulheres portadoras do HIV, observam-se tempos muito curtos (meses) de progressão

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Pelotas.

<sup>2</sup>Departamento Materno Infantil, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Pelotas.

Trabalho realizado na Universidade Federal de Pelotas. Financiamento: Bolsa de Iniciação Científica – CNPq.

para lesões pré-invasivas graves e câncer cervicouterino. Em virtude disso, tantos CDC (*Centers for Disease Control*) quanto o Ministério da Saúde preconizam a realização de colpocitologia após o diagnóstico inicial do HIV e, caso negativa, deve-se repeti-la 6 meses depois. Mantida a ausência de evidências de NIC, repetir a colpocitologia anualmente. Somente as portadoras de atipias à colpocitologia devem ser referidas para colposcopia e biópsia dirigida.<sup>9,10</sup>

Além da maior prevalência de NIC em pacientes portadoras do HIV, a presença de candidíase recorrente e infecção genital crônica pelo vírus do herpes simples pode ser manifestação inicial de imunodeficiência em mulheres HIV-soropositivas.<sup>11, 12</sup>

## OBJETIVO

Relacionar a gravidade de lesão cervical diagnosticada por exame citopatológico, a persistência de HPV, a presença de vaginose bacteriana, herpes genital e infecções genitais por cândida à contagem de células CD4 em pacientes HIV-positivo.

## MÉTODOS

Foi realizado estudo transversal, no qual foram avaliadas, através de revisão de prontuários, 383 pacientes soropositivas do ambulatório do Serviço de Assistência Especializada em HIV/AIDS (SAE) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), que haviam recebido atendimento no Serviço de Ginecologia nos últimos 10 anos.

Foram consideradas HIV-positivo as pacientes que apresentaram dois testes imunoenzimáticos de ELISA positivos e um teste confirmatório com imunofluorescência ou Western Blott.

As pacientes foram distribuídas quanto ao índice de CD4 em quatro grupos: CD4 abaixo de 100 cél/mm<sup>3</sup>, entre 101-250 cél/mm<sup>3</sup>, entre 251- 350 cél/mm<sup>3</sup> e acima de 351 cél/mm<sup>3</sup>. A quantificação das células CD4 foi realizada pela técnica de citometria de fluxo/facscount-count, e, para a coleta dos dados, foi escolhida a quantificação mais próxima da última consulta em que foi coletado o citopatológico.

A verificação da presença de HPV foi realizada pela detecção de alterações no exame citopatológico compatíveis com papiloma.

O diagnóstico de cândida foi realizado pelo exame a fresco. Já para o diagnóstico de vaginose bacteriana, utilizaram-se os

critérios de Amsel: corrimento vaginal branco-acinzentado em pequena quantidade, pH > 4,5, teste das aminas (teste do KOH 10%) positivo e bacilos supracitoplasmáticos sugestivos de *Gardnerella vaginalis/Mobiluncus sp* na microscopia.<sup>13,14</sup>

Foi utilizada uma ficha-padrão para a obtenção dos dados, os quais foram analisados no programa SPSS 13.0. Considerou-se para significância estatística um P valor < 0,05.

O projeto foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UFPel.

## RESULTADOS

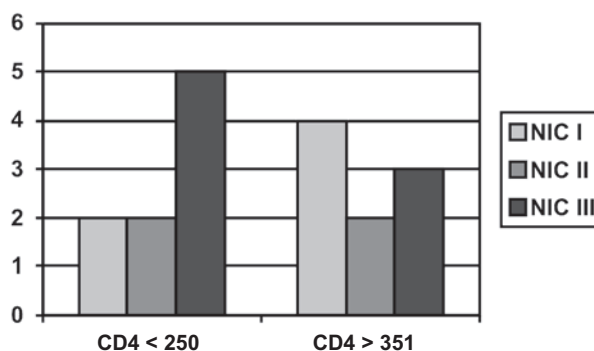
Foram analisadas as informações coletadas de 383 mulheres soropositivas. A faixa etária das pacientes variou de 14 a 62 anos, com mediana de 29 anos e média de 30,51 anos. A idade do início da atividade sexual variou de 10 a 37 anos.

Do total, 358 pacientes possuíam o registro do resultado do citopatológico. Dessas, 22 (6,15%) apresentaram alteração neste exame. Vinte e um por cento das pacientes tinham valores de CD4 abaixo de 250. A associação de NIC com valores baixos de CD4 não foi significativa (P = 0,2), conforme observado no **Gráfico 1**. Entre as 383 pacientes, 84 (16,7%) apresentavam alguma lesão causada pelo HPV. A associação entre presença de lesão por HPV e CD4 < 250 não foi significativa (P = 0,12).

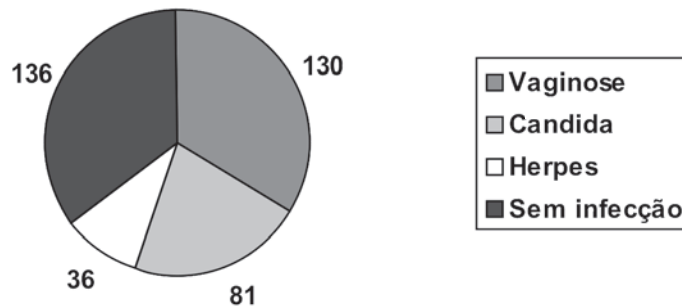
No grupo de pacientes CD4 < 250 (42% da amostra), menos da metade apresentava infecção vaginal (45%). Não houve associação significativa entre valores de CD4 < 250 e maior ocorrência de herpes genital (P = 0,3), vaginose bacteriana (P = 0,3), e infecções por cândida (P = 0,6) (**Gráfico 2**).

## DISCUSSÃO

A história natural das neoplasias intraepiteliais cervicais mostra que se trata de um processo multifatorial, em que o papilomavírus humano é necessário, mas não suficiente, para ocasionar o aparecimento da lesão. Desse modo, vários fatores poderão exercer papel importante tanto na inicialização como na evolução das lesões, como o tabagismo, os contraceptivos hormonais, a paridade e a dieta. Outras doenças sexualmente transmissíveis associadas ao HPV (como o herpes genital) também poderão ter papel facilitador na evolução dessas neoplasias.<sup>15</sup>



**Gráfico 1:** Relação de NIC e CD4.



**Gráfico 2:** Prevalência de infecções cervicovaginais em pacientes HIV-positivo.

As infecções pelo HIV e pelo HPV estão vinculadas a fatores predisponentes semelhantes, o que facilita a sua concomitância. Ambas estão associadas a baixo nível socioeconômico, multiplicidade de parceiros, coitarca precoce, intercurso sexual desprotegido, multiparidade, dentre outros fatores.

As mulheres com imunodeficiência têm maiores chances de desenvolver neoplasias intraepiteliais cervicais e vaginais. Além disso, alguns estudos demonstram associação entre a gravidade da neoplasia intraepitelial cervical e a imunossupressão induzida pelo HIV.

No entanto, atualmente, a maioria dos estudos aponta para a não associação entre a gravidade da neoplasia cervical e a imunossupressão, especialmente após o advento da HAART (terapia antirretroviral de alta potência). À medida que melhora o arsenal terapêutico para as pacientes HIV-positivo, a sobrevida tende a aumentar, bem como a incidência de NIC.<sup>16</sup>

No nosso estudo não verificamos a associação entre imunossupressão e ocorrência da lesão ( $P = 0,2$ ), ou seja, a contagem de linfócitos T CD4 não se mostrou estatisticamente diferente entre as pacientes sem neoplasia intraepitelial cervical ou aquelas com neoplasia de baixo ou alto grau.

Acreditamos que a alta frequência de pacientes em uso de terapia antirretroviral possa ser uma das responsáveis pelos nossos resultados, pois ao incrementar a resposta imunológica, a terapia antirretroviral aumenta os níveis de linfócitos T CD4 e impede a progressão das neoplasias cervicais.

A frequência de DST é elevada entre pacientes HIV soropositivas. As DST facilitam a transmissão do HIV devido às úlceras e inflamações nas mucosas da vulva, vagina e colo uterino. Já se demonstrou redução de 42% dos casos incidentes após agressivo programa de tratamento de DST.

As alterações inflamatórias mais frequentes entre as mulheres do presente estudo foram decorrentes de infecções como vaginose bacteriana e candidíase. Vaginose bacteriana e herpes genital são importantes co-fatores para a transmissão do HIV.<sup>17</sup> Estudo de coorte mostrou que a vaginose bacteriana é mais prevalente e persistente entre as mulheres infectadas pelo HIV.<sup>18</sup> A imunossupressão associada ao vírus parece ser importante fator de risco para as situações nas quais existem quadros mais graves de vaginose.

Embora a literatura afirme uma associação entre a prevalência de infecções cervicovaginais e a baixa contagem de células CD4,

não encontramos evidência desta associação em nossas pacientes no que se refere a herpes genital ( $P = 0,3$ ), vaginose bacteriana ( $P = 0,3$ ) e infecções por cândida ( $P = 0,6$ ). Uma possível explicação talvez, novamente, seja o fato de grande parte da amostra estudada ser de pacientes em uso de drogas antirretrovirais.

## CONCLUSÃO

Concluimos que a infecção pelo HIV se associa com frequência a NIC e a processos infecciosos genitais, em especial o HPV. Sugerimos a necessidade de se avaliar rotineiramente a presença do HPV na cérvix uterina de mulheres infectadas pelo HIV.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Aids no Brasil. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMIS13F4BF21PTBRIE.htm>. Acessado em: 13/01/2009.
2. Palefsky JM, Minkoff H, Kalish LA, et al. Cervicovaginal human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-1 (HIV)-positive and high-risk HIV-negative women. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 226-36.
3. Delmas MC, Larsen C, van Benthem B, et al. Cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women: prevalence, incidence and regression. European Study Group on Natural History of HIV Infection in Women. *AIDS* 2000; 14: 1775-84.
4. Strickler HD, Burk RD, Fazzari M, Anastos K, Minkoff H, Massad LS, et al. Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human immunodeficiency virus-positive women. *J Natl Cancer Inst*. 2005; 97(8): 577-8.
5. Mbizvo EM, Msuya SE, Stray-Pedersen B, Chirenje MZ, Hussain A. Cervical dyskaryosis among women with and without HIV: prevalence and risk factors. *Int J STD AIDS* 2005;16(12): 789-93.
6. Moodley M, Garib R. The significance of human papillomavirus infection detected by cervical cytology among women infected with the human immunodeficiency virus. *J Obstet Gynaecol* 2004; 24(8): 903-6.
7. Zimmermann JB, Melo VH, Castro LPF, Alves MM, Zimmermann SG, Castillo DM. Associação entre a contagem de linfócitos T CD4+ e a gravidade da neoplasia intra-epitelial cervical diagnosticada pela histopatologia em mulheres infectadas pelo HIV. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, vol.28 n°6, Rio de Janeiro, Junho de 2006.
8. Coelho RA, Facundo MF, Nogueira AL, Sakano CSB, Ribalta JCL, Baracat EC. Relação entre diagnóstico citopatológico de neoplasia intra-epitelial cervical e índices de células CD4+ e de carga viral em pacientes HIV-soropositivas. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, vol.26, n° 2, 2004.
9. Centers for Disease Control. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines 2006. Disponível em: <http://www.cdc.gov/std/treatment/2006/genital-warts.htm>. Acessado em: 13/01/2009.
10. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis – DST. 4ª Ed. Brasília: Programa Nacional de DST/Aids; 2006.
11. Sobel JD. Gynecologic infections in human immunodeficiency virus-infected women. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 1225-33.

12. Handsfield HH, Golden M. Epidemiologic and therapeutic data point to opportunities for improved STD control [online] 2003 [cited 2003 oct 2]. Disponível em: <http://www.medscape.com/pages/features/public/index.search>. Acessado em: 13/01/2009.
13. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KCS, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis: Diagnosis criteria and microbial and epidemiologic associations. American Journal of Medicine, 1983; vol. 74, nº 1, pp. 14-22.
14. Spiegel CA, Amsel R, Holmes KK. Diagnosis of bacterial vaginosis by direct gram stain of vaginal fluid. J Clin Microbiol 1983; 18(1): 170-177.
15. Ahmed AM, Madkan V, Tyring SK. Human papillomaviruses and genital disease. Dermatol Clin. 2006; 24(2): 157-65.
16. Maiman M, Fruchter RG, Sedlis A, et al. Prevalence, risk factors, and accuracy of cytologic screening for cervical intraepithelial neoplasia in women with the human immunodeficiency virus. Gynecol Oncol 1998; 68: 233-9.
17. Handsfield HH, Golden M. Epidemiologic and therapeutic data point to opportunities for improved STD control [online] 2003 [cited 2003 oct 2]. Disponível em: <http://www.medscape.com/pages/features/public/index.search>. Acessado em: 13/01/2009.
18. Jamicson DJ, Duerr A, Klein RS, Paramsothy P, Brown W, et al. Longitudinal analysis of bacterial vaginosis: findings from the HIV epidemiology research study. Obstet Gynecol 2001, vol.98, nº4, pp. 656-663.

**Endereço para correspondência:****RENATA MULLER ROSENTHAL**

Endereço: Dr. José Castanheira Passos, nº33, Areal – Pelotas, RS.

CEP: 96085 – 000

Telefone: (53) 8403-82-20

E-mail: akasharmr@yahoo.com.br

Recebido em: 17/01/2009

Aprovado em: 21/02/2009

# PAPILOMAVIROSE HUMANA EM GENITAL, PARTE I

## GENITAL HUMAN PAPILOMAVIROSIS, PART I

Mauro Romero L Passos<sup>1</sup>, Gutemberg Almeida<sup>2</sup>, Paulo César Giraldo<sup>3</sup>,  
Sílvia Maria B Cavalcanti<sup>4</sup>, João Carlos Côrtes Junior<sup>5</sup>, Renato S Bravo<sup>6</sup>,  
Renata Q Varella<sup>7</sup>, Susana CA Fialho<sup>8</sup>, Isabel CC Val<sup>9</sup>

### RESUMO

Nas últimas décadas, algumas doenças têm adquirido proporções epidêmicas mundialmente. Dentre essas pandemias, pode-se destacar a infecção genital pelo papilomavírus humano (HPV). A infecção pelo HPV geralmente é assintomática e, na maioria dos casos, é transitória, já que o sistema imunológico pode ser capaz de combater o processo infeccioso, resolvendo-o ou tornando-o inativo. Vários tipos do HPV são causadores de lesões genitais, manifestando-se, por exemplo, como condiloma acuminado. Algumas lesões genitais podem associar-se à infecção persistente e ao desenvolvimento de neoplasias intraepiteliais e até de câncer, ao longo de anos. Há muito tempo procura-se uma terapia que seja considerada definitiva para as doenças causadas pelo HPV. Atualmente, as opções vão da ablação da lesão até a sua destruição com agentes químicos ou físicos. Pela frequência com que a infecção genital pelo HPV se manifesta na população, suas múltiplas aparências clínicas e o avanço em novas opções de abordagem para essas doenças são focos constantes de pesquisas. Diversas modalidades de tratamento já estão disponíveis para as lesões genitais pelo HPV, desde as citodestrutivas até a excisão cirúrgica. A utilização de produtos autoaplicáveis e em domicílio pode ter bons resultados para o paciente. A disponibilidade de vacinas contra HPV para a população pode ser o início de nova era na prevenção primária da infecção por HPV. Todavia, os milhões de casos clínicos de infecção por HPV, sobretudo os de condiloma acuminado, serão responsáveis por muitos anos de trabalho árduo para tratar as pessoas já acometidas. Este artigo, parte I, propõe-se a fazer uma ampla revisão sobre os principais aspectos da etiopatogenia, da clínica, do diagnóstico, do tratamento e da profilaxia de lesões genitais por HPV.

**Palavras-chave:** HPV, condiloma acuminado, DST, tratamento

### ABSTRACT

In recent decades, some diseases have reached epidemic proportions worldwide. Among these pandemics, genital infection by Human Papillomavirus (HPV) can be highlighted. HPV infection is usually asymptomatic and, in most cases, is transient, since the immune system may be able to fight the infectious process by either solving it or inactivating it. Several types of HPV cause genital lesions, and can be manifested as, for example, a condyloma acuminatum. Some genital lesions can be associated to persistent infection and development of intraepithelial neoplasia and even cancer in time. For many years, there has been a demand for a definite therapy to treat HPV. Nowadays, the options range from the ablation of the lesion to its destruction with chemical or physical agents. Based on the frequency with which genital HPV infection manifests itself in the population, its many clinical aspects and the advances of new options to approach these diseases, it has become a continuous research focus. Several types of treatment are available for genital HPV lesions, ranging from the cytoreductive treatments to those carried out by surgical excision. The use of self and domestic applicable products can present good results for the patient. The availability of HPV vaccines for the population may be the beginning of a new era in the primary prevention of HPV infection. However, the millions of cases of HPV infection, especially the condyloma acuminatum will be responsible for many years of hard work treating those already infected. This article, Part I, attempts to carry out a comprehensive review on the main pathogenic, clinical, diagnostic, treatment and prophylactic aspects of HPV genital lesions.

**Keywords:** HPV, genital wart, treatment

## O PAPILOMAVÍRUS HUMANO

O papilomavírus humano (HPV) pertence à família Papillomaviridae e é capaz de infectar células epiteliais em peles ou mucosas, onde pode causar lesão. Trata-se de um vírus pequeno (cerca de 55 nm), com estrutura simples, não envelopado, de formato icosaédrico, sem enzimas ou glicoproteínas e formado

por dupla fita de DNA circular, protegida por uma capa de proteínas (**Figura 1**)<sup>1-3</sup>.

O DNA do HPV contém 7.900 pares de base, codifica apenas nove genes e pode ser dividido em três regiões, a saber: regulatória (LCR - *log control region*), precoce (*Early* - E1 a E7) e tardia (*Late* - L1 e L2). Na região LCR, estão os genes que codificam proteínas com funções reguladoras da atividade celular, como a replicação e a transcrição, enquanto os genes da região L codificam as proteínas do capsídeo viral<sup>4,5</sup>. A **Figura 2** demonstra um esquema do genoma do HPV 16 e no **Quadro 1** podem ser verificadas as funções de diferentes tipos de proteínas da região precoce do HPV<sup>3,5</sup>.

O HPV é classificado em 140 tipos genômicos, divididos em grupos de acordo com o risco oncogênico: baixo risco (onde se encontram sobretudo os tipos 6 e 11) e alto risco (representados principalmente pelos tipos 16 e 18) (**Quadro 2**)<sup>6</sup>. Podem ainda ser agrupados, de acordo com a afinidade pelos diferentes tecidos,

<sup>1</sup>Professor associado, chefe do Setor de DST da Universidade Federal Fluminense. Presidente da Comissão Nacional Especializada em Doenças Infecto-contagiosas em Ginecologia e Obstetria da Febrasgo.

<sup>2</sup>Professor adjunto de Ginecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

<sup>3</sup>Professor associado livre-docente do Departamento de Tocoginecologia da Universidade Estadual de Campinas.

<sup>4</sup>Professora associada de virologia da Universidade Federal Fluminense.

<sup>5</sup>Professor-adjunto de morfologia da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

<sup>6</sup>Professor-adjunto de ginecologia da Universidade Federal Fluminense.

<sup>7</sup>Mestre em Medicina (DST), doutoranda em medicina da Universidade Federal Fluminense.

<sup>8</sup>Doutora em medicina (ginecologia) pela Universidade Federal do Rio de Janeiro.

<sup>9</sup>Professora-adjunta de ginecologia da Universidade Federal Fluminense.



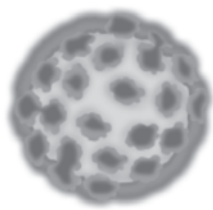


Figura 1 - Esquema da estrutura do HPV.

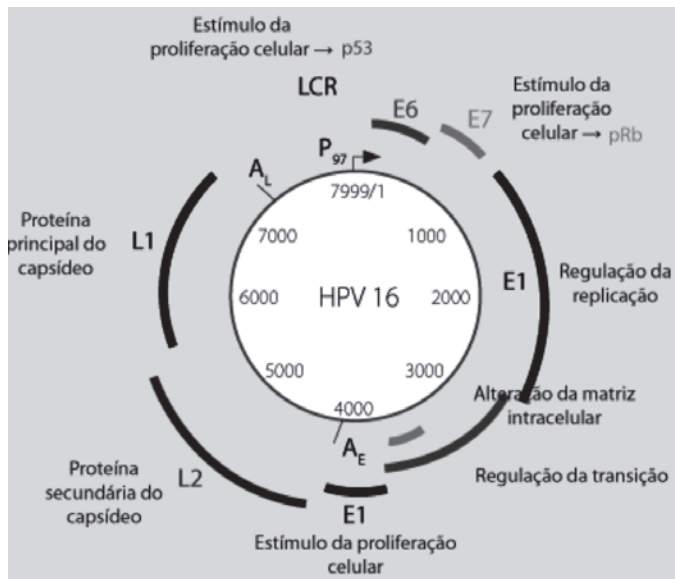


Figura 2 - Esquema do genoma do HPV 16 com suas três regiões: regulatória (:LCR), precoce (E) e tardia (L).

em mucosotrópicos (que exibem maior afinidade por mucosas) e epidermotrópicos (que exibem maior afinidade pela pele)<sup>5</sup>.

Todavia, de acordo com a taxonomia dos papilomavírus, os gêneros compartilham menos de 60% de igualdade na sequência de nucleotídeos da região de leitura aberta de L1. Já as espécies compartilham 60% a 70%, e os tipos, 71% a 89%<sup>7,8</sup>. Os tipos são identificados por números que indicam a sequência histórica de sua descrição. Quando existe semelhança de 90% a 95% na sequência de nucleotídeos de um tipo já identificado, emprega-se o termo “subtipo”. O gênero de maior importância clínica é o alfa-papilomavírus, que se subdivide em 15 espécies<sup>8</sup>.

A árvore filogenética ilustra melhor o quadro anterior (Figura 3).

Uma variedade de doenças pode ser causada pelos diferentes tipos de HPV<sup>9</sup>. No caso de lesões genitais, o foco é para o grupo de mucosotrópicos, onde cerca de 30 vírus estão distribuídos de acordo com o potencial carcinogênico e podem ser detectados em lesões malignas e pré-malignas. Há também os vírus de baixo risco, associados a condilomas e outras lesões benignas, que têm o potencial de regredir espontaneamente ou evoluir para câncer<sup>3</sup>.

A grande importância do HPV deve-se ao papel que desempenha no contexto das doenças sexualmente transmissíveis e na capacidade de causar doença crônica com potencial oncogênico.

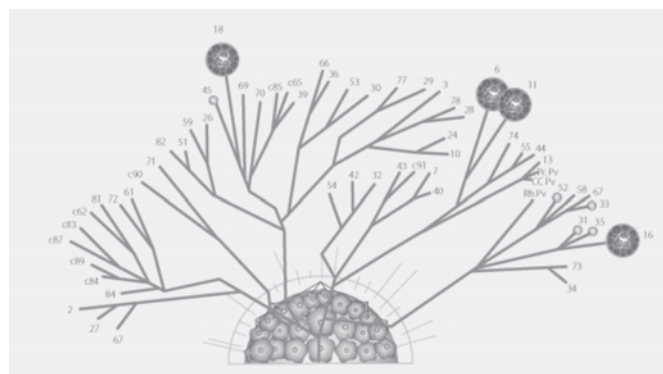


Figura 3 - Árvore filogenética do gênero alfa-papilomavírus humano.

### Transmissão do HPV

Para que ocorra transmissão viral, é necessário o contato entre duas superfícies<sup>3</sup>. Assim, a transmissão do HPV não ocorre através do sangue, já que ele não faz viremia, ou do ejaculado, exceto na presença de um condiloma uretral. Embora já se tenha detectado HPV em espermatozoide, não foi possível comprovar seu potencial infectivo.

Uma vez havendo o contato com o ser humano na presença de microtraumatismos, geralmente não perceptíveis, na superfície da pele ou mucosa, o HPV atinge a camada basal do epitélio, devido a sua afinidade pelo queratinócito (Figura 4)<sup>3</sup>. A expressão de integrina alfa-6 pelas células basais parece ser a responsável pela afinidade do vírus por esta camada celular. O HPV necessita do citomorfismo exibido por esta camada epitelial, onde as células mudam as formas conforme sua involução no epitélio. Uma vez dentro destas células germinativas, o vírus acompanha o processo de diferenciação celular e consegue se replicar<sup>3,5</sup>.

Pelo fato de depender da interação e da diferenciação celular para se replicar, o cultivo do HPV *in vitro* torna-se difícil. Atualmente, estudam-se meios de cultivo desse vírus, como a utilização de matriz colágena, mas apenas para o HPV 6 e o 18. Da mesma forma, não existe ainda modelo animal de estudo de patogênese, pois os papilomavírus são altamente espécie-específicos e o HPV infecta exclusivamente o homem<sup>3,5</sup>. Atualmente, o estudo do HPV em laboratório é realizado através da correlação clínica com dados obtidos por biologia molecular. A simplicidade estrutural do HPV, sem um alvo específico para a atuação dos fármacos, aliada à variedade de tipos genotípicos e à dificuldade em seu estudo pela falta de meio de cultura e por ser espécie-específica, limita estudos para a abordagem terapêutica.

Apesar de todos os tipos de HPV terem tropismo por células epiteliais escamosas, o tipo também tem relação com a região afetada<sup>5</sup>. O local mais frequentemente acometido é a mucosa, não apenas devido ao tropismo do vírus por esse tecido, mas por ser o local com maior probabilidade de microtraumatismo e ainda por ser a região que permite contato permanente<sup>3,5</sup>. Os HPV 6, 11, 16 e 18 têm afinidade por mucosa, não sendo encontrados em lesões pelo vírus nas superfícies cutâneas. O contato sexual é a principal forma de infecção, apesar de não ser a única<sup>9</sup>. Existem circunstâncias significativas que favorecem a localização do vírus em mucosas. As questões relacionadas à bioquímica podem explicar as preferências de localização, sendo parte referente à sua homologia genética, que permitirá que o vírus se ligue aos receptores de membrana na superfície da célula, e parte relacio-

<b>Quadro 1. Proteínas da região precoce do HPV</b>	
E1	- Codifica proteínas para a manutenção do genoma viral - Importante na indução da replicação viral
E2	- Juntamente com a E1, induz a replicação viral - Tem efeitos positivos e negativos na transcrição viral - Importante na prevenção da transformação oncogênica em células contendo o DNA viral
E4	- Pouca informação a respeito desta proteína - Associada a colapso da rede de citoqueratina celular, provavelmente auxiliando na saída do vírus da célula. É o que promove o característico aspecto de coilocitose nas células infectadas pelo HPV - Possível papel na regulação da estabilidade do RNAm - Não parece ser necessária para a transformação oncogênica
E5	- De maneira independente, pode causar transformação tumorigênica, provavelmente associada à modificação das vias de fatores de crescimento. Parece ativar os receptores para o fator de crescimento da epiderme, resultando em estímulo do crescimento celular - Em associação à proteína E7, pode promover a malignização das linhagens celulares afetadas. Pode inibir a expressão do gene supressor de tumor p21
E6 e E7	- O potencial oncogênico dos tipos de HPV de alto risco está relacionado às proteínas E6 e E7 - Inibem a função de proteínas supressoras de tumor, como p53 e Rb (retinoblastoma) - Juntas, promovem uma regulação negativa ( <i>downregulation</i> ) de genes que expressam interferon, limitando a resposta imune do hospedeiro à infecção

nada à resposta do hospedeiro, que permitirá ou não uma alteração clínica, dependendo do tipo de resposta imunológica do indivíduo infectado.

## Mecanismo da infecção

Quando o HPV se encontra no interior da célula germinativa, dois diferentes cursos poderão ser estabelecidos:

a) Infecção produtiva – produtos de alguns genes virais estimularão a mitose, resultando em lesões benignas, como os condilomas.

b) Infecção não produtiva – processo em que não haverá a produção de vírus, mas ao infectar a camada germinativa ocorrerá a integração do genoma viral com o genoma humano, passando a ser transmitido como um caráter mendeliano. Nesse processo de integração, o vírus rompe seu principal gene de regulação, o E2, o que bloqueará a sua capacidade de sintetizar várias proteínas, inclusive as do capsídeo. Quando o gene E2 é mantido funcional, existe a repressão de oncoproteínas do HPV, mas, ao ser quebrado, as oncoproteínas passam a ser expressas, conduzindo à imortalização celular. Como descrito anteriormente, existem duas oncoproteínas aceitas na literatura, a E6 e a E7<sup>3,10,11</sup>. A E6 é mais estudada e atua inibindo a p53, que é uma proteína supressora de tumor, expressa em toda célula saudável e que ativa o reparo do DNA diante de um erro na síntese genômica<sup>10</sup>. Quando a célula saudável não consegue ativar esse processo de reparo pela p53, ocorre a sua apoptose (morte programada da célula), impedindo que uma mutação se transforme em um fenótipo; o HPV tira essa possibilidade e qualquer mutação poderá se transformar em um fenótipo. A E6 do HPV 16 é uma proteína ligadora de DNA que interage não apenas

com a p53, mas com outros fatores celulares, resultando em bloqueio da apoptose, alterações na transcrição celular, distúrbios na sinalização intracelular e no aumento do ciclo de vida das células, o que pode contribuir para a transformação maligna. Já a E6 de um HPV de baixo risco liga-se com muito menos afinidade à proteína p53 e não causa sua degradação<sup>12</sup>. A oncoproteína E7 pode-se ligar a outra proteína supressora de tumor, a proteína de retinoblastoma (pRb), que na célula saudável é capaz de controlar o processo de transcrição e tradução de proteínas<sup>11</sup>. Ao retirar essa proteína E7, existe um estímulo para a célula transcrever e traduzir mais proteínas, constituindo-se em mais um estímulo mitogênico, com multiplicação desordenada e manutenção de células mutadas<sup>11</sup>. Assim como a E6 dos vírus de baixo risco, a E7 desses vírus também se liga com menor afinidade à proteína do retinoblastoma, quando comparados aos vírus de alto risco<sup>3</sup>. Pode-se concluir que o HPV induz o câncer, retirando a capacidade do organismo humano de bloquear a progressão de células cancerosas.

Assim, o tipo de lesão ou o comprometimento da saúde do indivíduo infectado dependem, em parte, do tipo de reação de agressão e defesa estabelecido. A alteração clínica em cada região também é dependente do maior ou menor potencial oncogênico do vírus.

## Resposta imune e infecção pelo HPV

A resposta imune contra o HPV inicialmente ocorre às custas da imunidade inata, que é imediata, com ação de citocinas (interferon, fator de necrose tumoral e interleucinas) e, a partir daí, ao longo dos meses, existe uma resposta de imunoglobulinas IgM e IgG, sendo que, em um último momento, ocorrerá resposta celular, com ativação de linfócitos T-citotóxicos e *T-helper* (Figura 3)<sup>13,14</sup>. A produção de

Quadro 2. Tipos e espécies filogenéticas do gênero alfa-papilomavírus, família Papillomaviridae segundo o Comitê Internacional sobre Taxonomia de Vírus<sup>8</sup>.

Espécies	Tipo	Outros tipos	Risco oncogênico e sítio de lesões
1	HPV 32	HPV 42	Baixo risco. Lesões mucosas
2	HPV 10	HPV 3 HPV 28 HPV 29 HPV 78 HPV 94	Baixo risco. Lesões cutâneas
3	HPV 61	HPV 72 HPV 81 HPV 83 HPV 84 Cand HPV 62 Cand HPV 86 Cand HPV 87 Cand HPV 89	Baixo risco. Lesões mucosas
4	HPV 2	HPV 27 HPV 57	Baixo risco. Verrugas cutâneas e lesões genitais em crianças
5	HPV 26	HPV 51 HPV 69 HPV 82	Alto risco. Lesões mucosas
6	HPV 53	HPV 30 HPV 56 HPV 66	Alto risco. Lesões mucosas
7	HPV 18	HPV 39 HPV 45 HPV 59 HPV 68 HPV 70 Cand HPV 85	Alto risco. Lesões mucosas
8	HPV 7	HPV 40 HPV 43 Cand HPV 91	Baixo risco. Lesões cutâneas e mucosas. Verrugas do açougueiro. Lesões cutâneas e mucosas em HIV-positivo
9	HPV 16	HPV 31 HPV 33 HPV 35 HPV 52 HPV 58 HPV 67	Alto risco. Lesões mucosas
10	HPV 6	HPV 11 HPV 13 HPV 44 HPV 74 PcPV	Baixo risco. Lesões mucosas. Relatos do HPV 6 em carcinoma verrucoso
11	HPV 34	HPV 73	Alto risco. Lesões mucosas
12	RhPV 1	-	Macaco Rhesus. Lesão mucosa genital
13	HPV 54	-	Baixo risco. Lesões mucosas
14	Cand HPV 90	-	Baixo risco. Lesões mucosas
15	HPV 71	-	Baixo risco. Lesões mucosas

anticorpos é importante na prevenção da disseminação da infecção, mas uma potente resposta mediada por células é provavelmente a responsável pela eliminação viral<sup>15</sup>. Todas as citocinas e células envolvidas promovem uma resposta mais eficiente através da ativação das células de Langerhans, responsáveis pela eliminação da lesão. Em um

organismo imunocompetente, essa sequência de eventos é capaz de causar a eliminação viral em cerca de 80% dos casos<sup>16</sup>.

O HPV pode, porém, exibir a capacidade de escapar do processo imunológico natural. Em geral, diante da evidência de um estresse em uma célula, o sistema imune inato é ativado, levando à destruição

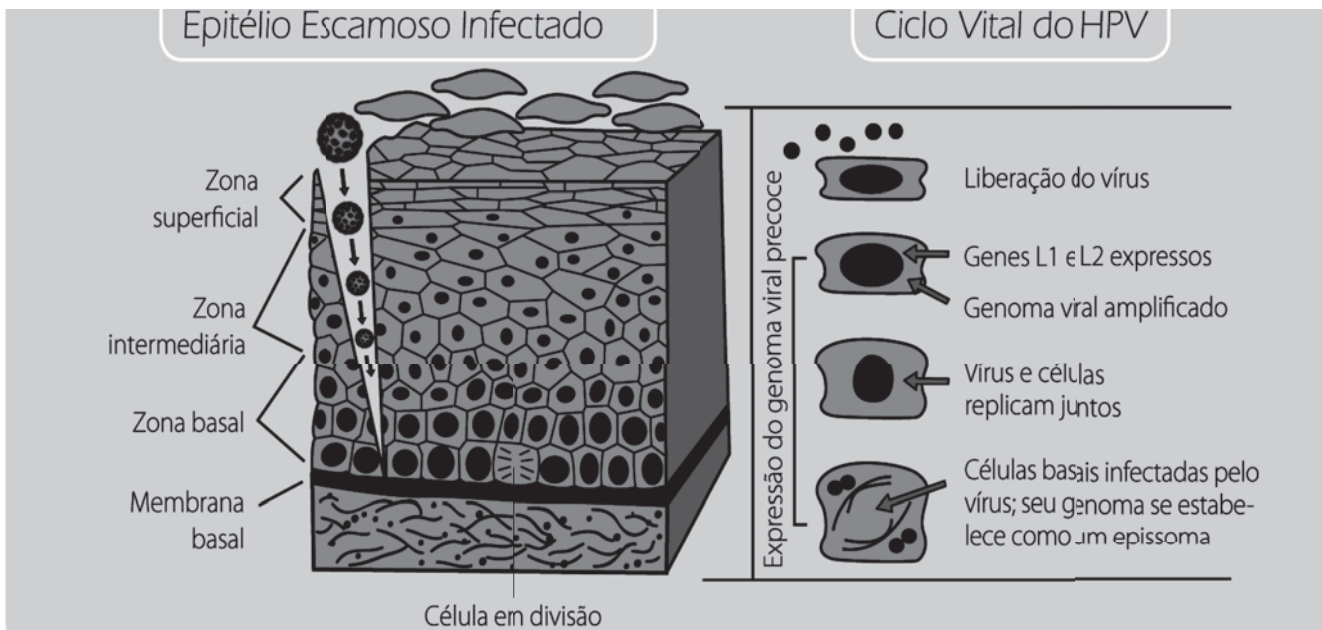


Figura 4 - Infecção do epitélio escamoso pelo HPV.

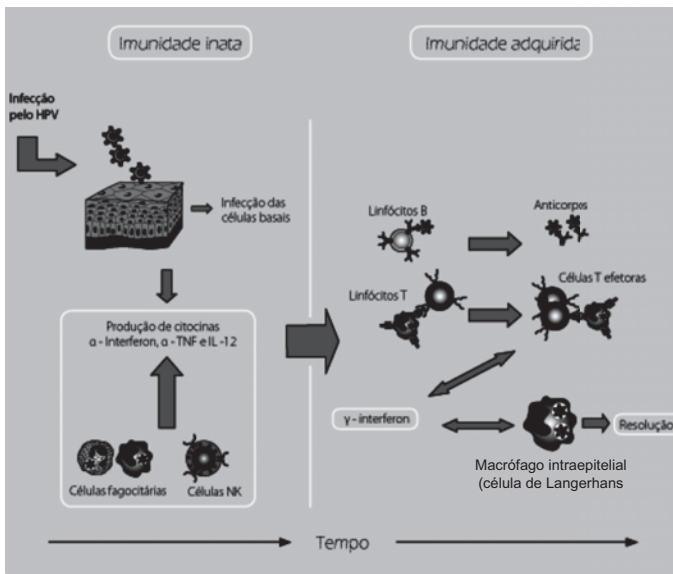


Figura 5 - Resposta imunológica à infecção pelo HPV e sua evolução. NK - natural killer; TNF - fator de necrose tumoral; IL - interleucina.

do vírus e da célula infectada. Mas, por vezes, após a infecção das células, os vírions do HPV permanecem no sítio infectado e não induzem a lise das células afetadas. Durante a replicação, as proteínas antigênicas do capsídeo viral não são expressas até as células terem se diferenciado nas camadas epiteliais superficiais, onde as células dendríticas do sistema imune não poderão mais reconhecer esses antígenos<sup>17</sup>. Proteínas transcritas de genes da região precoce, sobretudo a E6 e a E7, promovem uma regulação negativa de funções relacionadas à sinalização de citocinas, como por exemplo o interferon (IFN). As células infectadas pelo HPV são também resistentes às células *natural killer* (NK), mas podem ser destruídas por células NK ativadas por citocinas e por macrófagos. Todos esses mecanismos podem permitir que a infecção pelo HPV não seja resolvida<sup>18,19</sup>.

Assim, após ser infectado com o HPV, um indivíduo poderá ou não desenvolver a doença. A presença de resistência imunológica pode levar à regressão espontânea do quadro. Diante de deficiência imunológica, poderá haver o estabelecimento de doença pelo HPV. Um indivíduo com HIV poderá, por exemplo, desenvolver mais facilmente a doença por HPV que indivíduos imunologicamente saudáveis<sup>20</sup>. Mulheres HIV-positivo podem apresentar risco seis vezes maior de terem verrugas genitais que as mulheres HIV-negativo<sup>21</sup>. Mas não é necessária uma deficiência imunológica grave para o desenvolvimento de doença por HPV; um exemplo prático é o do colo do útero, onde lesões por HPV ocorrem com maior frequência, certamente por ser uma zona de transformação celular, estar mais suscetível à ação de hormônios e passar por momentos de discretas imunomodulações ao longo do ciclo menstrual.

O entendimento do processo imunológico envolvido na infecção pelo HPV é de extrema importância, tendo em vista que, colocando a imunidade como alvo terapêutico, existe significativa probabilidade de sucesso no tratamento, considerando as limitações impostas pela estrutura simples do vírus, sua dificuldade de cultivo e sua condição espécie-específica.

A Figura 5 demonstra a resposta imunológica à infecção pelo HPV e a evolução desse processo imunológico.

## História natural da infecção pelo HPV

A infecção pelo HPV inicia-se com a penetração do vírus no epitélio, através de microtraumatismos, atingindo a camada basal. A partir daí a infecção pode evoluir para uma das seguintes formas: uma infecção latente, em que não existe crescimento ou evidência microscópica da presença do vírus; uma infecção subclínica, em que a manifestação clínica é tão discreta que sua visualização requer equipamento para melhor examinar a região; ou uma lesão clínica. Regressão espontânea pode ocorrer em qualquer fase dessa evolução (Figura 6)<sup>5</sup>. Em virologia, denomina-se persistência verdadeira uma

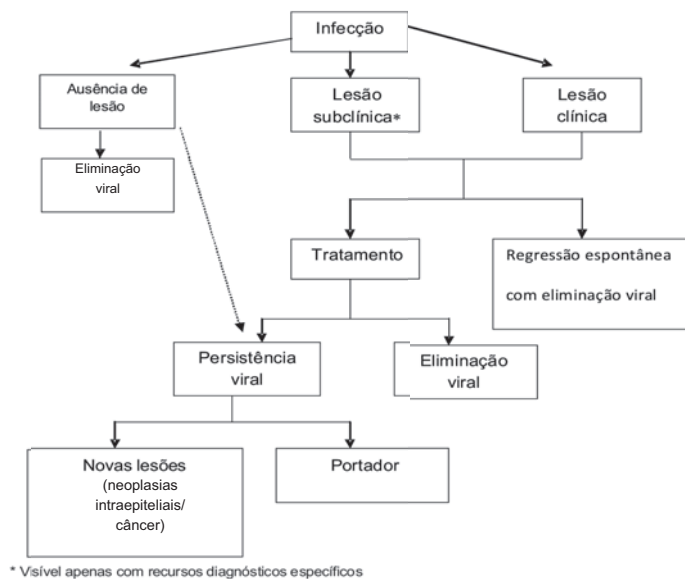


Figura 6 - Evolução após infecção pelo HPV.

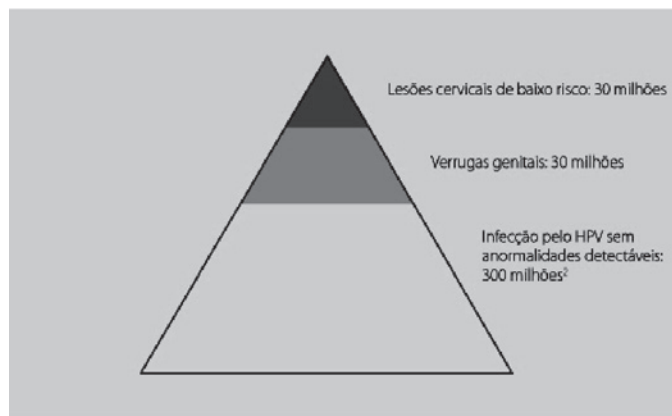


Figura 7 - Incidência mundial estimada do HPV.

infecção acompanhada de multiplicação viral, enquanto latência se refere a uma infecção sem multiplicação. Nos estudos de vacina, persistência viral é definida pela detecção de DNA viral por duas vezes, no intervalo de 1 ano, ou no último exame do estudo. A maioria das infecções genitais por HPV é latente ou subclínica<sup>5</sup>. A resposta imunológica do hospedeiro é que determina o tipo de evolução.

### O tipo de vírus envolvido na infecção

O tipo de vírus envolvido na infecção também influencia o curso da doença. Mulheres infectadas com tipos de HPV de alto risco oncogênico têm maiores taxas de progressão para neoplasia

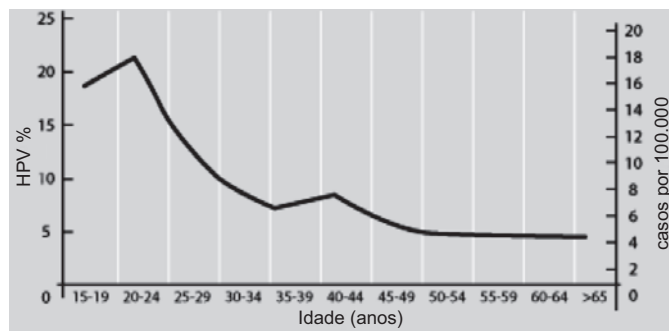


Figura 8 - Distribuição do HPV de acordo com a idade nos Estados Unidos.

intraepitelial, comparadas àquelas infectadas por vírus de baixo risco oncogênico<sup>22-26</sup>. Adicionalmente, mulheres positivas para vírus de alto risco exibem menor tempo para a progressão de uma atipia de células escamosas de significado indeterminado para lesões mais severas, sendo que a duração das lesões também é maior que a prevista com vírus de baixo risco<sup>27</sup>.

A suscetibilidade genética seria outro fator que poderia influenciar a história natural da infecção pelo HPV. Polimorfismos no antígeno leucocitário humano (HLA) podem responder pela maior ou menor predisposição de certos indivíduos à infecção pelo vírus<sup>28</sup>.

### Epidemiologia

O HPV genital está entre as infecções virais de transmissão sexual mais comum<sup>29</sup>. Estima-se que no mundo existam cerca de 30 milhões de novos casos de verruga genital diagnosticados<sup>30</sup>. Considerando-se os casos de HPV positivo, mas sem manifestação clínica, esse número pode chegar a 300 milhões de novos casos por ano. A pirâmide na **Figura 7** ilustra bem essa situação<sup>31</sup>.

Entre os mais de 100 tipos de HPV já identificados, 30 são transmissíveis e são considerados causadores de doença genital<sup>3</sup>. Aproximadamente 5,5 milhões de novas transmissões pelo HPV ocorrem nos Estados Unidos a cada ano, representando cerca de um terço de todos os novos casos de doenças sexualmente transmissíveis<sup>32</sup>. Estudo realizado nesse país, em 1997, evidenciou que cerca de 1% das mulheres adultas sexualmente ativas apresentava verrugas genitais<sup>29</sup>. A prevalência da infecção pelo HPV na população masculina também é significativa, porém é assintomática na maioria dos casos; as lesões, quando presentes, localizam-se principalmente no pênis<sup>33</sup>. As evidências indicam que mais de 70% dos parceiros de mulheres com infecção cervical por HPV e/ou neoplasia intraepitelial são portadores desse vírus<sup>34</sup>. Estima-se que 20 milhões de homens e mulheres serão infectados pelo HPV em algum momento de suas vidas<sup>29</sup>.

A maioria das verrugas cutâneas causadas por HPV é autolimitada e regride espontaneamente em um curso de 2 anos<sup>35</sup>. Mesmo no caso de infecção por tipos de HPV de alto risco, as lesões podem regredir espontaneamente, sem efeitos adversos a longo prazo<sup>16,22</sup>. Fatores de risco adicionais são requeridos para o desenvolvimento de câncer de colo, incluindo: número de parceiros sexuais masculinos, idade na primeira relação sexual, história reprodutiva da paciente (paridade, abortos, idade da menarca e da menopausa), tabagismo, uso prolongado de contraceptivos orais, predisposição genética<sup>3,5,36</sup>. Existe ainda uma distribuição da infecção pelo HPV



Figura 9 - Lesão de condiloma acuminado também conhecida como crista de galo.

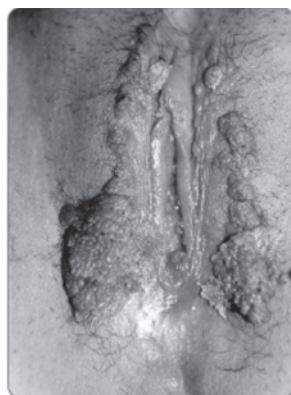


Figura 10 - Lesões condilomatosas causadas pelo HPV em região vulvar.

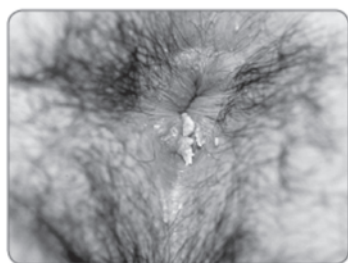


Figura 11 - Lesões de condiloma acuminado em borda anal.



Figura 12 - Lesão verrucosa causada pelo HPV em comissura labial.

de acordo com a idade, sendo mais frequente em adultos jovens com vida sexual ativa (**Figura 8**)<sup>3,22</sup>. Existe ainda uma associação entre outras doenças sexualmente transmissíveis e a infecção pelo HPV; infecção por herpes vírus, HIV, clamídia e sífilis podem estar relacionadas à progressão das lesões por HPV<sup>37</sup>.

Dados recentes sugerem que o HPV está presente em praticamente todos os casos de câncer cervical<sup>33</sup>. O DNA do vírus do tipo oncogênico pode ser demonstrado em 97,7% dos casos de câncer de colo de útero<sup>38</sup>. Outros locais como vulva, ânus e pênis podem ter casos de câncer contendo HPV de alto risco, porém em menor proporção<sup>33</sup>. Alguns fatores foram relacionados ao aumento do risco de câncer de pênis, como: fimose, processo inflamatório crônico (balanopostite e líquen escleroatrófico) tratado com corticoide de alta potência, fotoquimioterapia com ultravioleta e tabagismo<sup>39</sup>.

Assim como no resto do mundo, as taxas de prevalência de câncer genital na América Latina também exibem aumento significativo<sup>40</sup>. Países como Brasil, México, Colômbia, Venezuela e outros reportam alta taxa de incidência anual de câncer genital. No Brasil, cerca de 19.200 novos casos de câncer de colo de útero são diagnosticados a cada ano, sendo uma das principais causas de morte por câncer entre mulheres, com cerca de quatro mil óbitos anuais<sup>41,42</sup>.

Existem menos evidências sobre a epidemiologia da infecção anal pelo HPV. Mulheres HIV-positivo ou negativo apresentaram maior prevalência do DNA do HPV na região anal do que na região genital, quando ambas foram analisadas na mesma paciente<sup>43</sup>. Também tem sido demonstrada uma forte associação entre os HPV de alto risco para o desenvolvimento da neoplasia cervical e o câncer anal, assim como a relação desses HPV e as lesões escamosas intraepiteliais do ânus<sup>43-48</sup>.

## CONDILOMA ACUMINADO

### Apresentações clínicas

A infecção pelo HPV é frequente, mas na maioria dos casos não causa doença clinicamente evidente<sup>49</sup>. Apenas uma pequena porcentagem de indivíduos infectados permanecerá com o vírus, como infecção crônica ou portadores persistentes, com a possibilidade de indução de proliferação de células epiteliais, malignas ou não<sup>49</sup>. As diferentes formas de evolução, a partir da infecção viral, refletem a complexa interação ente o HPV e seu hospedeiro.

Dentre as manifestações clínicas causadas pela infecção pelo HPV, destacam-se as verrugas cutâneas ou mucosas de localização anogenital, que têm sido descritas desde a antiguidade<sup>49</sup>. Porém, foi apenas no início do século XX que a origem infecciosa dessas lesões foi demonstrada<sup>50</sup>. Cerca de 30 tipos de HPV podem infectar o trato genital, podendo ficar latentes ou causar lesão exofítica (verrucosa, papulosa, plana) em pele ou mucosas (vulva, vagina, colo, ânus, pênis, bolsa escrotal etc.), chamada de condiloma acuminado, também conhecida como crista de galo<sup>3</sup>. Lesões anogenitais visíveis são geralmente causadas por HPV 6 ou 11, que exibem baixo poder oncogênico<sup>5,51</sup>.

## Localização das lesões genitais por HPV

As lesões visíveis do condiloma acuminado podem ser discretas ou coalescerem formando placas (**Figuras 9-13**)<sup>52</sup>. Evidências clínicas e histopatológicas (**Figura 14**) podem ser usualmente identificadas em cerca de 1 a 8 meses após a infecção. As manifestações epiteliais da infecção pelo HPV incluem: espessamento da epiderme, hiperplasia do estrato córneo e algum grau de hiperqueratose. Sem tratamento, essas lesões podem regredir espontaneamente, persistir como lesões benignas ou progredir para lesões pré-cancerosas e eventualmente para câncer<sup>5</sup>. Já foi sugerido que a persistência da doença possa ser atribuída à falta de células de Langerhans no sítio da lesão, reduzindo o estímulo da imunidade mediada por células<sup>53</sup>. Para a transformação oncogênica, as evidências demonstram que é necessária a integração do genoma viral com o DNA do hospedeiro<sup>5</sup>.

No homem, as verrugas genitais causadas pelo HPV são usualmente encontradas no pênis e na região perianal<sup>54</sup>. Na mulher, as áreas mais acometidas incluem vulva, introito vaginal, região perianal e colo do útero. A progressão oncogênica está associada aos tipos virais de alto risco, como o 16 e o 18, sendo que o tipo de câncer mais frequente nesses casos é o carcinoma espinocelular de ânus, vulva e pênis. O HPV também se relaciona ao desenvolvimento de neoplasia intraepitelial cervical e à sua progressão para câncer de colo<sup>5</sup>. As seguintes neoplasias intraepiteliais podem se associar à infecção pelo HPV: NIC (neoplasia intraepitelial cervical), NIV (neoplasia intraepitelial de vulva), NIA (neoplasia intraepitelial de ânus), NIVa (neoplasia intraepitelial de vagina) e NIP (neoplasia intraepitelial de pênis). Em

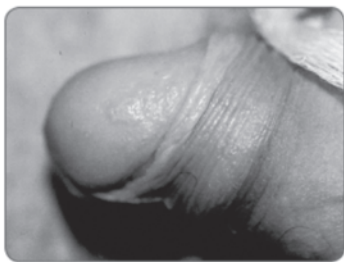


Figura 13 - Lesão em glândula, recidivante, tratada várias vezes com ácido tricloroacético. A histopatologia diagnosticou papulose bowenoide.

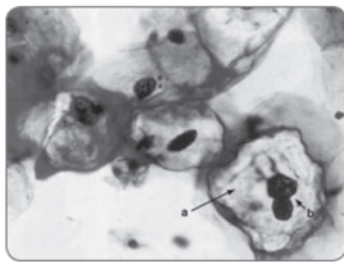


Figura 14 - Anormalidades colpocitológicas. A) coilocitose; b) binucleação.

pacientes imunodeprimidos a infecção por HPV tende a causar doença mais severa, com maior probabilidade de transformação oncogênica<sup>5</sup>.

Deve-se ter cuidado em proceder corretamente ao diagnóstico diferencial das lesões genitais, principalmente nos casos recidivantes. Assim, biópsia para análise histopatológica é boa conduta. Por outro lado, nem tudo o que é excrescência ou alto-relevo rugoso em genital é infecção pelo HPV. As hipertrofias de papilas, anatomicamente normais, são muito frequentes, principalmente em pessoas jovens (**Figuras 15 e 16**).

## Neoplasia intraepitelial vulvar

Desde o primeiro relato dessa lesão na região vulvar<sup>55</sup>, a neoplasia intraepitelial vulvar (NIV) recebeu várias denominações: doença de Bowen, eritroplasia de Queyrat, carcinoma simplex, carcinoma *in situ*, carcinoma intraepitelial. Todavia, o termo papulose bowenoide<sup>56</sup> ficou muito difundido e foi motivo de confusão entre os especialistas. Todas essas denominações foram abandonadas e não são recomendadas pela *International Society for the Study of Vulvovaginal Disease* (ISSVD).

O termo neoplasia intraepitelial vulvar foi introduzido por Crum *et al.*, em 1982<sup>57</sup>, e adotado pela ISSVD desde a classificação de 1986<sup>58</sup>.

A NIV era classificada em NIV I, II e III, de acordo com o grau de anormalidade, e NIV III diferenciada<sup>59</sup>.

A classificação atual, aprovada pela ISSVD, foi publicada como se segue<sup>60</sup>.



Figura 15 - Adolescente com hipertrofia de papila em glândula (normalidade), sem qualquer participação de infecção por HPV ou outro agente infeccioso.



Figura 16 - Adolescente com hipertrofia de papilas vulvares (normalidade), sem qualquer participação de HPV ou outro agente infeccioso.

NIV tipo usual

a) NIV tipo verrucoide

b) NIV tipo basaloide

c) NIV tipo mista (verrucoide/basaloide)

NIV tipo diferenciada

O termo NIV I não será mais usado e passará a ser descrito como condiloma acuminado ou efeito HPV. As NIV II e III e a NIV III diferenciada passam a ser apenas categorizadas como NIV.

A maioria dos pacientes com NIV é assintomática ou apresenta sintomas inespecíficos como prurido ou queimação vulvares.

A NIV tipo usual acomete pacientes jovens e origina-se de uma infecção causada por HPV, em geral tipo 16<sup>61,62</sup>. A NIV diferenciada acomete pacientes idosas e é causada por uma lesão de pele, o líquen escleroso ou, mais raramente, a hiperplasia escamosa.

A NIV não tem uma aparência macroscópica uniforme. Na NIV tipo usual, as lesões são papulosas, múltiplas ou coalescentes, podendo ser leucoplásicas (brancas), hiperpigmentadas (pretas) ou eritoplásicas (vermelhas). Mais comumente as lesões são polimorfas, isto é, observa-se uma miscelânea dessas características. Há tendência à multicentricidade e à multifocalidade. Na NIV tipo diferenciada as lesões tendem a ser únicas e de aspecto leucoplásico, eritoplásico (erosão, ulceração) ou leucoeritoplásico. Essas lesões se desenvolvem sobre um campo de líquen escleroso e não têm ligação com o HPV.

O diagnóstico clínico é baseado apenas na aparência macroscópica das lesões, que são identificadas à vista desarmada, em sua totalidade, o que torna a vulvoscopia e o teste de Collins desnecessários e, até mesmo, inúteis.

O diagnóstico definitivo é feito pela histopatologia. A biópsia é procedimento simples, realizado em regime ambulatorial e sob anestesia local.

Histologicamente, a NIV tipo usual se caracteriza por hiper ou paraceratose, indiferenciação em toda a espessura epitelial, presença de coilócitos, figuras de mitose atípicas e *corps ronds*. A NIV tipo diferenciada caracteriza-se pela diferenciação das camadas superiores do epitélio (as atípicas se restringem às camadas mais profundas), ausência de coilócitos, presença de disqueratose e de pérolas escamosas.

O potencial oncogênico dessas lesões é variável. A NIV usual tem um potencial oncogênico menor do que a NIV diferenciada. Na realidade, na maioria das vezes o carcinoma da vulva está associado com o líquen escleroso (61%) e não com o HPV (31%)<sup>63</sup>. Desta forma, admite-se que o precursor mais frequente do carcinoma de vulva é a NIV diferenciada.

O tratamento ideal da NIV é cirúrgico<sup>64</sup>. Em pacientes jovens, sobretudo, esse deve ser conservador. A preservação do clitóris e a enxertia ou rotação de retalhos devem ser praticadas para manter a função sexual e melhorar a estética da região. Entretanto, a extensão da operação dependerá da idade da paciente, da localização, da extensão e do número de lesões. A excisão ampla da lesão (vulvectomia parcial) com margem de segurança de 1 cm é suficiente. Nas lesões extensas que acometem toda a vulva, a vulvectomia simples é, às vezes, necessária. A associação de cirurgia convencional com o *laser* (se houver disponibilidade) é uma boa opção<sup>65</sup>.

O tratamento clínico com 5-fluorouracil não é recomendado devido aos resultados desapontadores (66) e à seqüela limitadora, a vulvodinia.

O imiquimode é uma droga imunomoduladora de uso cutâneo. Os poucos relatos de seu uso na NIV dão conta do relativo sucesso dessa terapêutica<sup>67-70</sup>. Na experiência de Almeida<sup>65</sup>, a droga foi usada em três casos de NIV (HPV-dependente) com ótimo resultado. Em todas as pacientes houve desaparecimento total das lesões com 5, 6 e 16 semanas de uso, respectivamente. A droga foi usada sob a forma de creme a 5%, com aplicações em dias alternados, três vezes por semana. Observaram-se boa aderência (a droga foi fornecida às pacientes) e boa tolerância ao tratamento, discretos efeitos colaterais locais (eritema, prurido, descamação vulvar) decorrentes da própria ação da droga e ausência de efeitos colaterais sistêmicos (**Figuras 17 e 18**). Acreditamos que esta é uma boa opção terapêutica conservadora, principalmente em pacientes jovens, com lesões pequenas, múltiplas e de localização de difícil abordagem cirúrgica, como o clitóris.

A recidiva da lesão pode acontecer, em 25% dos casos, em meses e até anos após o tratamento cirúrgico, por isso o seguimento destas pacientes deve ser de longo prazo.

## Diagnóstico

### A. Diagnóstico clínico

A inspeção clínica geralmente é suficiente para o diagnóstico das lesões genitais externas por HPV e existe boa correlação entre os achados ao exame físico e os estudos histopatológicos<sup>51</sup>. Com frequência, as verrugas genitais são multifocais, com mais de uma lesão em um mesmo sítio anatômico, ou multicêntricas, quando as lesões estão distribuídas em mais de uma localização (períneo e colo uterino, por exemplo). É importante a inspeção de todo o trato genital baixo, para



Figura 17 – NIV.



Figura 18 - Após tratamento com imiquimode a 5%.



a detecção das lesões multicêntricas. Recomenda-se ainda a investigação de lesões intra-anais em pessoas com relato de relação sexual anal. Todavia, a inspeção externa está indicada em todas as pessoas com lesões clínicas genitais por HPV.

### B. Histopatologia

Além de permitir a visualização das alterações no epitélio acometido, a biópsia pode ter função terapêutica, quando é possível a retirada completa da lesão, além de contribuir para o diagnóstico diferencial e o achado de lesões associadas ao condiloma. A análise histopatológica não detecta o vírus, mas as alterações teciduais causadas pela infecção, como hiperplasia, hiperqueratose e coilocitose. O material para análise histopatológica pode ser obtido por biópsia, utilizando *punch*, tesoura delicada, bisturi, ou por cirurgia de alta frequência. No **Quadro 3** encontram-se os principais diagnósticos diferenciais para a infecção por HPV.

**Quadro 3.** Diagnósticos diferenciais da infecção por HPV

<p style="text-align: center;">Ceratose seborreica Molusco contagioso Angioqueratose Papilomatose não viral Sífilides papulosas Papiloma plano sifilítico Líquen plano</p>
--

### Fibroma de vulva

Em caso de lesão genital verrucosa com características típicas de condiloma acuminado, a biópsia em geral não é necessária<sup>33</sup>. Diante de várias lesões clinicamente atípicas em uma mesma região, recomenda-se biopsiar a mais atípica. Nesses casos, pode ainda haver outras lesões não causadas por HPV associadas, como um carcinoma basocelular ou uma dermatite actínica, que também poderão ser resolvidas com o tratamento empregado para o condiloma. Em casos de lesões genitais de longa duração ou recidivantes, é prudente a realização da biópsia, pela possibilidade de instalação de uma displasia, sobretudo na vulva.

### C. Biologia molecular

Diferentes técnicas de biologia molecular podem ser utilizadas para a detecção da presença do HPV, como o teste de hibridização molecular, a captura híbrida, a reação em cadeia de polimerase (PCR) e a hibridização *in situ*. A técnica de hibridização é a mais sensível para a detecção do HPV<sup>33</sup>. O teste de captura híbrida tem sido considerado o exame mais prático e comercial para a detecção do HPV, com alta sensibilidade e especificidade. A PCR tem sensibilidade e capacidade de identificação do DNA viral semelhantes às do método de captura híbrida<sup>71</sup>. Por fim, com o método de hibridização, é possível a avaliação do tecido ou do esfregaço celular ao mesmo tempo em que se avalia a presença ou não do vírus, apesar de sua menor sensibilidade<sup>33</sup>. O *line blot assay* (LBA) e o *line array* (LA) permitem a detecção de múltiplos tipos em um único passo e sua identificação com elevada sensibilidade, o que é essencial em casos de infecções por mais de um tipo<sup>72</sup>.

O diagnóstico virológico baseado na biologia molecular pode ser indicado em casos específicos, sendo mais utilizado para estudos epidemiológicos.

## Tratamento

### Bases do tratamento do condiloma acuminado

O tratamento direciona-se inicialmente às lesões causadas por HPV, baseando-se em exérese da lesão, métodos citodestrutivos (físicos ou químicos), imunomodulação ou combinação dessas modalidades terapêuticas<sup>73-75</sup>. Algumas dessas terapias podem ser aplicadas pelo próprio paciente, sendo denominadas de autoaplicáveis. A escolha do tratamento deve ser realizada na dependência de fatores relacionados ao paciente (idade, preferência) e às lesões (tipo, extensão, quantidade e localização). Apesar de não existirem estudos que avaliem a relação custo-benefício de todas as opções terapêuticas para as lesões causadas pela infecção do HPV, alguns fatores econômicos também devem ser analisados no momento da escolha do tratamento, como: custo do procedimento, número de consultas médicas necessárias para a completa remissão da lesão, período de afastamento das atividades laborativas (para a realização do procedimento, retornos e recuperação) e a taxa de recorrência<sup>75,76</sup>. Apesar de exibirem alguma eficácia, existe uma alta taxa de recorrência com a maioria dos tratamentos atualmente disponíveis<sup>77,78</sup>. Os principais objetivos terapêuticos são a completa erradicação das lesões e a eliminação viral<sup>20</sup>.

Um estudo conduzido em nosso meio comparou as diferentes formas de tratamento de condilomas acuminados, a saber: a) pacientes tratados com cauterização das lesões; b) pacientes tratados com interferon-alfa; c) pacientes tratados com associação de cauterização e interferon-alfa; d) pacientes tratados com placebo. A melhor taxa de cura foi obtida com a associação da cauterização e administração sistêmica de interferon-alfa<sup>79</sup>.

A ablação cirúrgica da lesão mantém-se como a abordagem básica para o tratamento da maioria das lesões anogenitais causadas por HPV. A remoção cirúrgica oferece a vantagem da rápida eliminação da lesão, porém com os inconvenientes associados a qualquer procedimento cirúrgico, como sangramentos e infecção na ferida<sup>76</sup>. O tratamento da lesão por HPV com cirurgia também se associa a alta taxa de recorrência, podendo chegar a 95%<sup>76,78</sup>.

Entre os métodos citodestrutivos que utilizam agentes físicos, podem ser destacados: a eletrocoagulação, a crioterapia e a laserterapia<sup>76</sup>. A eletrocauterização associa-se a menor risco de sangramento que a cirurgia, porém com menor eficácia e ainda elevada taxa de recorrência (76-78). O resultado na eliminação da lesão pode ser muito bom com a laserterapia com CO<sub>2</sub>, o que também não reduz a recorrência das lesões, que cairia de 9 a 72%<sup>80,81</sup>. Já com a crioterapia, a resposta pode não ser tão eficaz quanto a cirurgia, além de ser dolorosa e exigir várias sessões de tratamento<sup>76,82</sup>. Em mulheres grávidas, a terapia com *laser* de CO<sub>2</sub> ou com a crioterapia têm sido consideradas eficazes e seguras para o tratamento da condilomatose<sup>76,83</sup>. Essas modalidades terapêuticas podem remover rapidamente as verrugas, mas podem ser dolorosas, destrutivas e as recorrências são comuns, além da cicatriz residual no local<sup>33,76</sup>.

A aplicação de agentes químicos constitui outra abordagem terapêutica citodestrutiva. O antimetabólito 5-fluorouracil atua inibindo a síntese de DNA e de RNA<sup>76</sup>. A terapia tópica com 5-fluorouracil promove boa eliminação da lesão, mas com expressivo processo inflamatório<sup>84</sup>. As desvantagens do fluorouracil residem na necessidade de injeção intralesional, o que é doloroso, além de associar-se a elevada recorrência e não poder ser administrado a gestantes, já que é teratogênico<sup>76</sup>. Outros agentes tópicos utiliza-

dos no tratamento das verrugas genitais por HPV são os ácidos bicloroacético e tricloroacético, que causam coagulação química das lesões. Também possuem alta taxa de recorrência e podem causar dano ao tecido circunvizinho<sup>85</sup>. A solução de podofilina já foi muito utilizada no tratamento das verrugas genitais, entretanto mostrava modestos índices de resolução das lesões (30 a 60%) e alta taxa de recorrência (30 a 70%)<sup>85</sup>. Como a podofilina possui dois agentes mutagênicos implicados como carcinógenos, seu uso foi substituído pela podofilotoxina, que ainda pode ser aplicada pelo próprio paciente<sup>76</sup>. A eficácia da podofilotoxina está entre 45 e 75%, com recorrência em 30 a 70% dos casos<sup>87</sup>.

O tratamento da verruga genital por HPV pode ser direcionado à eliminação viral, o que constitui uma abordagem racional. Nessa linha de imunoterapia incluem-se os interferons e o imiquimode. A imunoterapia é considerada promissora no tratamento da lesão por HPV, pois pode potencializar a eficácia dos outros tratamentos e reduzir a taxa de recorrência<sup>76</sup>. Espera-se que a imunoterapia provoque respostas no hospedeiro semelhantes às de indivíduos que apresentam regressão espontânea da lesão, o que se deve à atuação da imunidade celular, predominantemente com linfócitos T CD4-positivos e macrófagos<sup>87</sup>. Os interferons parecem atuar por

meio de indução de proteínas antivirais, da promoção de ações imunorregulatórias e da inibição da diferenciação das células infectadas pelo HPV<sup>76</sup>. Os estudos têm demonstrado uma significativa variabilidade na eficácia do tratamento de verrugas genitais com interferons, de 47 a 61%<sup>86,78</sup>. Atualmente, a necessidade de múltiplas injeções intralesionais, os eventos adversos sistêmicos e o custo limitam seu uso na prática clínica.

Mais recentemente, o imiquimode, um agente imunomodulador, que induz a produção de interferons e outras citocinas, tem demonstrado eficácia, segurança e menor recorrência no tratamento das lesões genitais causadas por HPV. A próxima seção detalha o imiquimode e seu papel terapêutico na infecção pelo HPV. O **Quadro 4** exhibe as vantagens e desvantagens das diferentes modalidades.

### Papel do imiquimode no tratamento do condiloma acuminado

O imiquimode é uma imidazoquinolina de baixo peso molecular, modificadora da resposta imune celular, que foi inicialmente indicada para o tratamento tópico de verrugas genitais externas e perianais (**Figura 19**)<sup>67</sup>. Trata-se de um tratamento auto-aplicável, em que o

<b>Quadro 4. Tratamento do HPV - vantagens e desvantagens das diferentes modalidades terapêuticas</b>			
<b>Tratamento</b>	<b>Tipo</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Cirurgia	Antitumor	- Rápida resolução da lesão	- Alta taxa de recorrência - Associa-se a sangramentos, infecções na ferida e formação de cicatriz
Eletrocautério	Antitumor	- Menos sangramento que o tratamento cirúrgico - Rápida resolução da lesão	- Alta taxa de recorrência - Pode deixar cicatriz no local do procedimento - Dor
Laserterapia	Antitumor	- Boa eficácia na resolução da lesão	- Alta taxa de recorrência - Dor - Alto custo - Pode deixar cicatriz no local da aplicação
Crioterapia	Antitumor	- Menos sangramento	- Alta taxa de recorrência - Dor - Alto custo - Menor taxa de resposta que a cirurgia - Pode deixar cicatriz no local da aplicação - Requer várias sessões
Agentes químicos	Antitumor	- Não requer procedimento cirúrgico	- Alta taxa de recorrência - Dor - Podem causar irritação local importante, com processo inflamatório, ulceração e formação de crosta - Requer várias sessões
Interferons	Antiviral	- Potencializa a eficácia de outros tratamentos - Reduz a taxa de recorrência	- Requer várias sessões - Alto custo - Eventos adversos sistêmicos - Dor com injeção intraliesional
Imiquimode	Antiviral	- Melhor tolerabilidade - Eficácia com redução da taxa de recorrência - Autoaplicável	- Alto custo - Resultados diferentes em homens - Irritação local

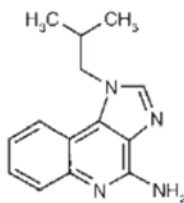


Figura 19 - Estrutura química do imiquimode.

próprio paciente realiza a aplicação domiciliar do medicamento, o que pode estar associado à melhora da adesão terapêutica.

Autoaplicação, boa tolerabilidade, mecanismo de ação único e taxa de eliminação da lesão relativamente alta e sustentada fazem do imiquimode uma terapia de primeira linha para verrugas genitais externas, com boa relação custo-eficácia, e uma apropriada terapia de segunda linha em caso de falhas dos outros métodos terapêuticos. Existe ainda a possibilidade de combinação do imiquimode aos outros tratamentos disponíveis.

## FARMACOCINÉTICA E METABOLISMO

A exposição sistêmica ao imiquimode após a aplicação tópica é mínima<sup>88,89</sup>. Tygum *et al.* aplicaram imiquimode radiomarcado na pele de sete indivíduos saudáveis e demonstraram que cerca de 97% da dose permaneceram no local da aplicação<sup>90</sup>. A administração percutânea de imiquimode em verrugas anogenitais, diariamente e por 16 semanas, sendo mantido no local da aplicação por 8 horas por dia, demonstrou que nem a substância nem seus metabólitos foram detectados na urina dos pacientes tratados<sup>88</sup>. Quando administrado em dose única por via oral, menos de 1% do imiquimode é recuperado na forma íntegra na urina, porém cerca

de 12 metabólitos podem ser identificados, sobretudo na forma de conjugados glicoronídeos<sup>88</sup>.

## MECANISMO DE AÇÃO

O imiquimode é considerado um imunomodulador<sup>90</sup>. Tanto a imunidade inata quanto a adquirida podem ser estimuladas após a aplicação tópica de imiquimode<sup>88</sup>. Na **Figura 20** está esquematizado o mecanismo de ação do medicamento.

A imunoestimulação é alcançada pela ativação de células do sistema imune inato (monócitos, macrófagos e células dendríticas) por meio da ligação a receptores na superfície celular, como o receptor Toll <sup>79</sup>. Segue-se a secreção de citocinas pró-inflamatórias (interferon-alfa, fator de necrose tumoral-alfa, interleucina-12), além de quimioquinas (interleucinas-1-6-8-10)<sup>91</sup>. Algumas dessas citocinas, particularmente a IL-12 e o INF- $\gamma$ , também potencializam a resposta imune adquirida, em especial a ativação de linfócitos *T-helper* 1 (Th1), e outras respostas mediadas por células, importantes no controle de infecções virais, de outros microrganismos intracelulares e tumores<sup>91</sup>. Ao ativar indiretamente os linfócitos Th1, o imiquimode promove a produção de interferon-gama, que estimula os linfócitos T-citotóxicos, responsáveis pela destruição das células infectadas por vírus, bem como das células tumorais<sup>92,93</sup>.

## ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS

A partir da demonstração do efeito antiviral do imiquimode em modelos animais com herpes simples, começou a ser observada a indução da produção de citocinas antivirais, como INF- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , e de citocinas que potencializam a resposta de linfócitos *T-helper* 1<sup>88</sup>. Estudos *in vitro* demonstraram que a maioria das citocinas pode ser detectada em 1 a 4 horas após a estimulação com a substância<sup>94,95</sup>. A aplicação tópica de imiquimode 1% a 5% em animais evidenciou que as citocinas estimuladas são detectadas apenas nas regiões que receberam a substância, sem efeito na pele que não a recebeu, de-

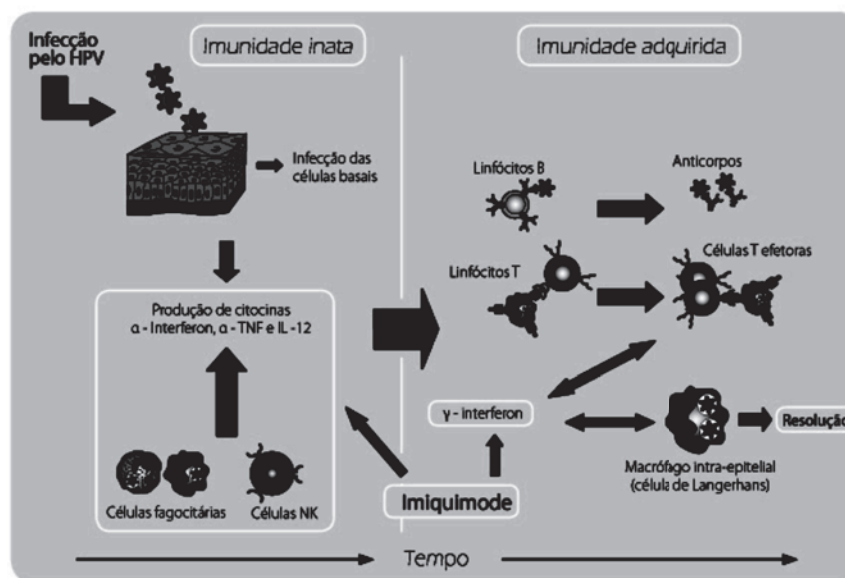


Figura 20 - Mecanismo de ação do imiquimode. NK - *natural killer*; TNF - fator de necrose tumoral; IL - interleucina.

monstrando sua atuação local<sup>96</sup>. O imiquimode foi ainda testado em modelos animais com outros vírus, como herpes simples e citomegalovírus, e com tumores, sendo efetivadas suas respostas antivirais e antitumorais, por ativação da imunidade inata<sup>97,99</sup>.

## ESTUDOS CLÍNICOS

As metas tradicionais para o controle das doenças sexualmente transmissíveis – eliminação da infecção, eliminação dos sintomas, prevenção de sequelas a longo prazo e interrupção da transmissão – não têm sido atingidas no tratamento das verrugas genitais<sup>100</sup>. Regressão espontânea das verrugas anogenitais ocorre em 10% a 30% de pacientes que recebem placebo, em estudos que avaliam as terapias para a infecção por HPV. Essa regressão está relacionada à resposta imune mediada por células, o que sugere que a potencialização da resposta imune pode ser uma alternativa aos métodos cirúrgicos ou citodestrutivos para o controle da doença. Até o final da década de 1990, a injeção de interferon era a única opção terapêutica direcionada à imunomodulação no tratamento das verrugas genitais, porém seu uso sempre foi limitado pela via de administração, pelos efeitos colaterais, pela eficácia relativa e pelo alto custo<sup>100</sup>.

Estudos com imiquimode demonstram uma eficácia superior ao placebo na eliminação das verrugas anogenitais, mantendo o resultado por pelo menos 12 semanas após o término do tratamento<sup>100,102</sup>. Tying *et al.* avaliaram a resposta terapêutica ao imiquimode, comparado ao placebo, em pacientes com verrugas genitais, e demonstraram a sua eficácia na redução da lesão e na carga viral no local, sem significativa reação cutânea local à droga<sup>101</sup>. Nesse estudo, ainda foi evidenciado o papel da imunidade celular pelo aumento intralesional de interferons, que são produtos de linfócitos Th1, nos pacientes que receberam imiquimode.

Um estudo de fase III, randomizado e duplo-cego, controlado com placebo, avaliou a eficácia e segurança de imiquimode (a 1% e a 5%) em relação ao placebo<sup>102</sup>. Foram avaliados 180 homens e 131 mulheres, com idade acima de 18 anos, apresentando entre duas e 50 lesões anogenitais, sendo indicada a administração no período da noite, três vezes na semana, por 16 semanas consecutivas. Os resultados mostraram que o imiquimode a 5% foi eficaz na eliminação da lesão, porém a eficácia do creme a 1% foi similar à do placebo. A resposta foi melhor em mulheres, provavelmente pelo menor tempo de lesão, quando comparado ao grupo masculino, e pela menor queratinização daquela. O tratamento foi bem tolerado e o eritema local foi o evento adverso mais frequente (67% no grupo com imiquimode a 5% e 24% no grupo com placebo), entretanto nenhum ou poucos pacientes apresentaram reação inflamatória local leve, em todos os grupos. Em outro estudo de fase III, os tratamentos com imiquimode a 1% ou 5% e com placebo foram administrados uma vez ao dia, por 16 semanas, encontrando-se melhor taxa de eficácia na eliminação da lesão quando comparado ao uso três vezes na semana, mas com reações locais mais frequentes e intensas<sup>103</sup>.

Buck *et al.* avaliaram os dados dos dois estudos fase IIIa, citados anteriormente, e demonstraram que das 725 mulheres participantes, 75% apresentaram completa eliminação das lesões, em uma análise de falha terapêutica<sup>104</sup>. Na análise de intenção de tratar (*intention-to-treat*), 62% das pacientes eliminaram totalmente

suas lesões e apenas 15% daquelas que tiveram uma inicial eliminação das verrugas apresentaram recorrência.

A avaliação do imiquimode como terapia adjuvante também demonstrou boa eficácia<sup>105,106</sup>. Após o tratamento das verrugas genitais com *laser*, a aplicação de imiquimode associou-se à eliminação da lesão em 65% dos pacientes, após 3 meses. Nesse estudo, apenas 7,3% dos pacientes mostraram recorrência nos 6 meses seguintes ao término do tratamento com imiquimode<sup>105</sup>. Quando aplicado após a excisão cirúrgica, o imiquimode resultou em taxa de recorrência, em 17 e 19 meses após o final do tratamento, de 15% e 20%, respectivamente, enquanto com o tratamento cirúrgico isolado, a recorrência chegou a 65%<sup>106</sup>.

O uso de imiquimode também foi avaliado em pacientes imunocomprometidos. Conant *et al.* analisaram em um estudo multicêntrico, duplo-cego, randomizado e controlado com placebo, a administração de imiquimode a 5% em pacientes HIV-positivo com lesões genitais por HPV<sup>107</sup>. Um total de 97 homens e três mulheres foi orientado a fazer a autoaplicação de imiquimode ou placebo, três vezes por semana, por 16 semanas ou até a eliminação da lesão. A análise de intenção de tratamento (*intention-to-treat*) mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo com imiquimode e o grupo-placebo em relação às taxas de eficácia de eliminação da lesão. Entretanto, houve redução importante no tamanho da lesão no grupo do imiquimode, o que deve ser considerado, já que pacientes imunodeprimidos tendem a ter aumento no tamanho das lesões.

A aplicação tópica tem demonstrado significativa eficácia na indução e na manutenção da remissão em pacientes com lesões cutâneas genitais ou perianais causadas pelo HPV. A substância não pode ser usada em mucosas. O imiquimode deve ser aplicado diretamente na área afetada, à noite (antes de dormir), idealmente em três aplicações semanais, por até 16 semanas<sup>108</sup>. Na manhã seguinte à aplicação, a área tratada deve ser lavada com sabonete neutro e água. A resposta usualmente é observada em 8 semanas<sup>103,109</sup>. A taxa de recorrência é baixa, variando de 13% a 19%<sup>110,111</sup>. Pode ser usado como terapia primária para o tratamento das lesões anogenitais causadas por HPV ou em terapia combinada a outras formas de tratamento, como crioterapia ou cirurgia.

A substância é bem tolerada e tem extensa margem de segurança<sup>88</sup>. O imiquimode surgiu como uma opção diante da insatisfação dos médicos e dos pacientes em relação às outras abordagens terapêuticas, no que diz respeito a dor, destruição tecidual, altas taxas de recorrência, tempo gasto no tratamento, direcionamento apenas para a lesão visível. O **Quadro 5** traz algumas vantagens do imiquimode.

## Pode ser utilizado em combinação a outros métodos de tratamento

Tanto os Centros de Controle de Doenças dos Estados Unidos (CDC) quanto a Associação Médica Americana recomendam que aqueles que tratam pacientes com HPV tenham o conhecimento e estejam preparados para a utilização dos diferentes tratamentos atualmente disponíveis, podendo ser necessária a combinação de uma terapia autoaplicável (imiquimode, por exemplo) e outra realizada pelo próprio médico (cirurgia, laserterapia ou crioterapia, por exemplo)<sup>88</sup>. As diretrizes brasileiras, orientadas pela Federação Brasileira de Ginecologia e Obstetria, definem o imiquimode como uma substância segura e efetiva para o tratamento de lesões anogenitais externas<sup>33</sup>.

**Quadro 5.** Vantagens do imiquimode no tratamento das verrugas anogenitais por HPV

Autoaplicação, com mais privacidade e comodidade, além de menos tempo gasto com o tratamento  
Boa tolerabilidade  
Ausência de efeito sistêmico  
Sem comprometimento dos tecidos vizinhos  
Baixa taxa de recorrência  
Eficácia comprovada  
Efeito antiviral e antitumoral

Um aspecto importante é a individualização do tratamento, como já comentado anteriormente. A escolha do tratamento será mais bem definida tendo como base as opções disponíveis no momento, os efeitos colaterais, a experiência do médico, a eficácia, a conveniência de cada método e a preferência do paciente, além do número, tamanho e localização das lesões<sup>112</sup>. Qualquer tratamento pode associar-se a desconforto local, menor ou maior, em que a sensibilidade do paciente também influenciará. Alguns pacientes irão preferir a autoaplicação, na privacidade de suas casas, sendo, nesses casos, o imiquimode uma opção eficaz e segura. Diante de uma pessoa com uma lesão extensa, a abordagem cirúrgica pode ser utilizada, tendo o imiquimode como terapia adjuvante para aumentar a taxa de eliminação da lesão e reduzir a recorrência.

**SEGURANÇA E EVENTOS ADVERSOS**

Em estudos de fase I, foi verificado que o imiquimode está associado à exposição sistêmica de menos 1%, e não demonstrou sensibilização ou fotossensibilização. Pode produzir processo irritativo local, sem comprometimento de tecidos vizinhos. Quando comparado a uma loção hidratante à base de vaselina, o imiquimode mostrou-se menos irritativo em pele não lesada<sup>88</sup>.

Em estudos de fase II, foram coletadas informações sobre eventos adversos. Estes foram similares em homens e mulheres, exceto pelo fato de os homens terem se queixado mais de prurido e as mulheres, mais de queimação. Formação de cicatrizes não foi relatada, apesar de infrequentemente (< 1%) terem sido notadas hipó ou hiperpigmentação no local da aplicação.

A avaliação de estudos fase III também contribuiu com informações sobre a segurança do imiquimode. Pelo processo inflamatório local, a principal alteração clínica é o eritema, seguido de queimação e irritação e, menos frequentemente, de ulceração e dor. No **Quadro 6**, é demonstrada a porcentagem de eritema encontrada em um estudo duplo-cego controlado com placebo e que avaliou 311 pacientes em tratamento com aplicação três vezes por semana, enquanto no **Quadro 7** se demonstra a porcentagem de reações leves ou ausentes<sup>101,111</sup>. A aplicação de imiquimode em esquema diário, apesar de bem tolerado, associou-se a mais eventos adversos que o seu emprego três vezes por semana (**Quadro 8**)<sup>102,111</sup>. Sintomas sistêmicos foram mínimos ou ausentes, condizentes com a baixa taxa de exposição sistêmica, sendo provavelmente devidos à produção de citocinas produzidas no local para a circulação sanguínea.

Durante os estudos que avaliaram o tratamento com imiquimode, a taxa de descontinuação do tratamento por eventos adversos foi baixa e comparável entre os grupos que receberam imiquimode a 5%, imiquimode a 1% ou placebo<sup>101,102</sup>. A segurança durante a gra-

**Quadro 6.** Porcentagem de eritema com a administração de imiquimode, três vezes por semana

Tipo de tratamento	Nenhum	Leve	Moderado	Grave
Imiquimode 5%	33%	27%	34%	6%
Imiquimode 1%	74%	22%	4%	0%
Placebo	76%	21%	3%	0%

**Quadro 7.** Porcentagem de reações ausentes ou leves com a administração de imiquimode a 5%, três vezes por semana

Tipo de reação cutânea	% de reações
Erosão	89%
Escoriação	94%
Prurido	95%
Edema	97%
Induração	98%
Ulceração	98%
Vesículas	99%

**Quadro 8.** Porcentagem de reações cutâneas adversas com a administração de imiquimode a 5%, em esquema de aplicação diária

Tipo de reação cutânea	Nenhum	Leve	Moderado	Grave
Eritema	17%	16%	44%	23%
Erosão	52%	16%	28%	3%
Escoriação	58%	22%	17%	3%
Edema	61%	21%	14%	4%
Prurido	66%	15%	13%	5%
Induração	76%	18%	5%	0%

videz não foi testada e recomenda-se que um método contraceptivo eficaz seja utilizado em mulheres em idade reprodutiva<sup>110</sup>.

**PREVENÇÃO DA INFECÇÃO POR HPV**

Devido à pandemia já mundial de infecção pelo HPV nas últimas décadas e à morbimortalidade associada às lesões e ao risco de desenvolvimento de câncer, a sua prevenção torna-se a chave para esse importante problema de saúde pública<sup>3</sup>.

Os métodos de prevenção primária envolvem a interferência nos fatores que propiciam a transmissão do vírus, como por exemplo, aqueles relacionados aos hábitos e comportamentos sexuais. No passado, a prevenção primária de verrugas genitais por HPV era realizada através de abstinência sexual, fidelidade mútua a longo prazo ou uso de preservativos<sup>110,113</sup>. As duas primeiras opções eram consideradas, até recentemente, as únicas condutas efetivas, já que as lesões por HPV também ocorrem em áreas não protegidas pelo preservativo. Entretanto, em uma população de mulheres jovens, o uso regular de preservativo demonstrou redução de 70% no risco de adquirir HPV<sup>114,115</sup>. Campanhas de prevenção da infecção pelo HPV, bem como das outras doenças sexualmente transmissíveis, também contribuem para a conscientização dos indivíduos sobre a importância do “sexo seguro”.

Atualmente, a arma mais eficaz na prevenção primária da infecção pelo HPV é a vacinação, dirigida aos tipos de vírus mais frequentes, responsáveis pelas lesões genitais.

Dispomos, hoje, de duas vacinas seguras e eficazes para infecções e doenças causadas pelos tipos de HPV contidos nos produtos. A primeira vacina foi aprovada em 2006 e conta com quatro VLP (6, 11, 16 e 18). Assim, confere proteção para os condilomas acuminados (verrugas anogenitais) e ao mesmo tempo para as neoplasias intraepiteliais e os cânceres de vulva, vagina, colo uterino e de ânus. Sua posologia é de três doses IM: 0 dia, 60 dias e 180 dias. No Brasil, está liberada para uso em meninas e mulheres de 9 a 26 anos de idade. A segunda vacina, no Brasil, está aprovada desde 2008 para uso em meninas e mulheres de 10 a 25 anos de idade e comprovou eficácia apenas para as neoplasias intraepiteliais e câncer do colo uterino. Esta vacina contém duas VLP (16 e 18). Também deve ser aplicada em três doses IM: 0 dia, 30 dias e 180 dias.<sup>116,117</sup>

Em relação à prevenção secundária, o principal objetivo é evitar o desenvolvimento de doença clinicamente evidente, uma vez que o indivíduo já foi infectado<sup>3</sup>. A triagem de indivíduos assintomáticos, através do exame de Papanicolaou, pode revelar alterações citopatológicas causadas pela infecção viral. Tem sido considerado que o momento para o início da triagem citológica deve ser baseado na idade de início da vida sexual, e não na idade cronológica<sup>3</sup>. A Sociedade Americana de Câncer sugere o início da investigação em um período de 3 anos após o início da atividade sexual vaginal, mas não depois dos 21 anos<sup>116,117</sup>. De uma maneira geral, o exame de Papanicolaou está indicado para o rastreio do câncer de colo uterino 3 anos depois de iniciada a vida sexual ou com 25 anos de idade, o que acontecer primeiro. Todavia, muitos médicos e muitas mulheres preferem ter um exame de base assim que existir coito vaginal. Isso pode levar a um vínculo maior da mulher com o sistema de saúde, pois outras situações podem ocorrer, como, DST/HIV, gravidez não planejada, disfunção sexual...

Evidências relacionadas à história natural da infecção pelo HPV e lesões de colo de útero de baixo e alto riscos sugerem que exista pouco risco de não se identificar uma lesão em até 3 a 5 anos após o início da exposição ao vírus<sup>118,20</sup>.

Por fim, a prevenção terciária é direcionada ao tratamento de indivíduos com infecção persistente, com o objetivo de evitar o desenvolvimento de doença clinicamente grave<sup>3</sup>. Uma vez detectada a lesão, diferentes abordagens terapêuticas podem ser empregadas, inclusive em associação. A taxa de recorrência é elevada após o tratamento das verrugas genitais por HPV. O imiquimode tem sido associado à eliminação eficaz da lesão, bem como à redução da taxa de recorrência, seja em monoterapia ou em combinação com outros métodos terapêuticos<sup>67</sup>.

Em outro artigo serão abordadas outras lesões induzidas por HPV, como as neoplasias do colo uterino, do ânus e do pênis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brown DR, Fife KH. Human papillomavirus infections of the genital tract. *Med Clin North Am* 1990; 74: 1455-85.
- Chang F. Role of papillomaviruses. *J Clin Pathol* 1990; 43: 269-76.
- Scheurer ME, Tortolero-Luna G, Adler-Storh K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology, and prevention. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15: 727-746.
- Schoell WM, Janicek MF, Mirhashemi R. Epidemiology and biology of cervical cancer. *Semin Surg Oncol* 1999; 16: 203-11.
- Brentjens MH, Yeung-Yue KA, Lee PC, Tyring SK. Human papillomavirus: a review. *Dermatol Clin* 2006; 20: 315-331.
- Syrjänen KJ. Epidemiology of human papillomavirus (HPV) infections and their associations with genital squamous cell cancer. *APMIS* 1989; 97: 957-70.
- Alves RRF. Infecção cervical por múltiplos tipos do papilomavírus humano em adolescentes sexualmente ativas: prevalência, fatores associados e anormalidades citológicas. Tese de doutorado. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2006.
- de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Cf papillomaviruses. *Virology* 2004; 324: 17-27.
- Tyring SK. Human papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis, and host immune response. *J Am Acad Dermatol* 2000; 43: S18-S26.
- Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 1990; 63: 1129-36.
- Dyson N, Howley PM, Munger K, Harlow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989; 243: 934-7.
- Crook T, Fisher C, Vousden KH. Modulation of immortalizing properties of human papillomavirus type 16 E7 by p53 expression. *J Virol* 1991; 65: 505-10.
- Gravitt PE, Shah KV. The biology of human papillomavirus infections. In: Rohan TE, Shah KV, eds. *Cervical cancer: from etiology to prevention*. Boston, MA: Kluwer Academic Publishers, 2004: 81-99.
- Woodworth CD. HPV innate immunity. *Front Biosci* 2002; 7: d2058-71.
- Stanley MA. Immunobiology of papillomavirus infections. *J Reprod Immunol* 2001; 52: 45-59.
- Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM, Rosseau MC et al. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high risk area for cervical cancer. *J Infect Dis* 1999; 180: 1415.
- Nees M, Geoghegan JM, Hyman T, Frank S, Miller L, Woodworth CD. Papillomavirus type 16 oncogenes downregulate expression of interferon-responsive genes and upregulate proliferation-associated and NF-kappaB-responsive genes in cervical keratinocytes. *J Virol* 2001; 75: 4283-96.
- Barnard P, Payne E, McMillan NA. The human papillomavirus E7 protein is able to inhibit the antiviral and anti-growth functions of interferon-alpha. *Virology* 2000; 277: 411-9.
- Park JS, Kim EJ, Kwon HJ, Hwang ES, Namkoong SE, Um SJ. Inactivation of interferon regulatory factor-1 tumor suppressor protein by HPV E7 oncoprotein. Implication for the E7-mediated immune evasion mechanism in cervical carcinogenesis. *J Biol Chem* 2000; 275: 6764-9.
- Gal SA. Female genital warts: global trends and treatments. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2001; 9: 149-154.
- Minkoff HL, Eisenberg-Marytiah D, Feldman J et al. Prevalence and incidence of gynecologic disorders among women infected with human immunodeficiency virus. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 824-36.
- Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Eng J Med* 1998; 338: 423.
- Koutsky LA, Holmes KK, Critchlow CW et al. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N Engl J Med* 1992; 327: 1272-8.
- Nobbenhuis MA, Walboomers JM, Helmerhorst TJ et al. Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. *Lancet* 1999; 354: 20-5.
- Moscicki AB, Hills N, Shiboski S et al. Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA* 2001; 285: 2995-3002.
- Giuliano AR, Harris R, Sedjo RL et al. Incidence, prevalence, and clearance of type-specific human papillomavirus infections: the Young Women's Health Study. *J Infect Dis* 2002; 186: 462-9.
- Schlecht NF, Platt RW, Duarte-Franco E et al. Human papillomavirus infection and time to progression and regression of cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1336-43.
- Maciag PC, Schlecht NF, Souza PS, Franco EL, Villa LL, Petzl-Erler ML. Major histocompatibility complex class II polymorphisms and risk of cervical cancer and human papillomavirus infection in Brazilian women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 1183-91.
- Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med* 1997; 102: 3-8.
- Khanna J, Van Look PFA, Griffin PD. Reproductive health: a key to a brighter future: biennial report 1990-1991. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1992.
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108.

32. Cates W. Estimates of the incidence and prevalence of sexually transmitted diseases in the United States. American Social Health Association Panel. Sex Transm Dis 1999; 26(Suppl 4) S2-7.
33. Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia. Projeto Diretrizes: Papilomavírus Humano (HPV) – Diagnóstico e Tratamento. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, 2002.
34. Nicolau SM, Camargo CGC, Stávale JN, Gallo C, Dôres GB, Lörincz A, et al. Hybrid capture in the detection of HPV DNA in male sexual partners of women with genital infection. 19th International Papillomavirus Conference, HPV 2001, Florianópolis; 2001.
35. Brady M. Common viral skin problems of childhood: warts and molluscum. J Pediatr Health Care 1988; 2: 208.
36. Bjorge T, Kravdal O. Reproductive variables and risk of uterine cervical cancer in Norwegian registry data. Cancer Causes Control 1996; 7: 351.
37. Cavalcanti SMB, Zardo LG, Passos MLR, Oliveira LHS. Epidemiological Aspects of human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil. J Infection 2000; 40: 80-87.
38. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol 1999; 189: 12-9.
39. Dillner J, von Krogh G, Horenblas S, Meijer CJ. Etiology of squamous cell carcinoma of the penis. Scand J Urol Nephrol Suppl 2000; 205: 189-93.
40. Lowy DR, Klizebauer R, Schiller JT. Genital human papillomavirus infection. Proc Nat Acad Sci USA 1994; 91: 2435-2440.
41. Registro Nacional de Patologias Tumorais. Diagnóstico de Câncer 1992. INCA (Pro-Onco). Ministério da Saúde, Brasil, 1992: 1985-1991.
42. Noronha V, Mello W, Villa L, Brito A, Macedo R, Mota R et al. Papilomavirus humano associado a lesões de cérvix uterina. Rev Soc Bras Medicina Trop 1999; 32: 235-250.
43. Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML, Costa M, Greenblatt RM. Prevalence and risk factor for anal human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus HIV-positive and high-risk HIV-negative women. J Infect Dis 2001; 183: 383-91.
44. Zaki SR, Judd R, Coffield LM, Greer P, Rolston F, Evatt BL. Human papillomavirus infection and anal carcinoma: retrospective analysis by in situ hybridization and the polymerase chain reaction. Am J Pathol 1992; 140: 1345-55.
45. Frisch M, Glimelius B, van den Brule AJ, Wohlfahrt J, Meijer CJ, Walboomers JM, et al. Sexually transmitted infection as a cause of anal cancer. N Engl J Med 1997; 337: 1350-8.
46. Frisch M, Fenger C, van den Brule AJ, Sorensen P, Meijer CJ, Walboomers JM, et al. Variants of squamous cell carcinoma of the anal canal and perianal skin and their relation to human papillomaviruses. Cancer Res 1999; 59: 753-7.
47. Kiviat NB, Critchlow CW, Holmes KK, Kuypers J, Sayer J, Dunphy C, et al. Association of anal dysplasia and human papillomavirus with immunosuppression and HIV infection among homosexual men. AIDS 1993; 7: 43-9.
48. Critchlow CW, Surawicz CM, Holmes KK, Kuypers J, Daling JR, Hawes SE, et al. Prospective study of high grade anal squamous intraepithelial neoplasia in a cohort of homosexual men: influence of HIV infection, immunosuppression and human papillomavirus infection. AIDS 1995; 9: 1255-62.
49. Snoeck R. Papillomavirus and treatment. Antiviral Research 2006; 71: 181-191.
50. Ciuffo G. Innesso positivo con filtrato di verruca vulgare. Giorn Ital Mal. Venereol 1907; 48: 12-17.
51. Professional Advisory Board (PAB) of the Australia and New Zealand HPV Project. Guidelines for the Medical Management of Genital HPV and/or Genital Warts in Australia and New Zealand. 3rd Edition; 2002.
52. Trofatter KF. Diagnosis of human papillomavirus genital tract infection. Am J Med 1997; 102 (5A): 21-27.
53. Arany I, Tyring SK. Status of local cellular immunity in interferon-responsive and non-responsive human papillomavirus-associated lesions. Sex Transm Dis 1996; 23-475.
54. Buechner SA. Common skin disorders of the penis. BJU Int 2002; 90(5): 498-506.
55. Hudelo, Oury, Cailliau. Duskerá érytroplásiforme de la muquese vulvaire. Bull Soc fran Dermat et Syph 1922; 29: 139.
56. Wade TR, Kopf AW, Ackerman AB. Bowenoid Papulosis of the genitalia. Arch Dermatol 1979; 115: 306.
57. Crum CP. Vulvar intra-epithelial neoplasia: The concept and its application. Hum Pathol 1982, 13:187.
58. Wilkinson EJ, Kneale B, Lynch PJ. Report of the ISSVD Terminology Committee. J. Reprod Med, 31:973, 1986.
59. Ridley CM, Frankman O, Jones ISC, Pincus S, Wilkinson EJ. New nomenclature for vulvar disease. Report of the Committee on Terminology. Am J Obstet Gynecol 1989; 160: 769.
60. Sideri M, Jones RW, Wilkinson EJ, Pretti M, Heller DS, Scurry, Haefner H, Neill S. Squamous Vulvar Intraepithelial Neoplasia. 2004 Modified Terminology ISSVD Vulvar Oncology Subcommittee. J Reprod Med 2005; 50: 807.
61. Pelisse M, Orth G, Croissant O, Lessana-Leibowitch M, Sedel D, Moyal-Barraco M, Hewit J & Escande JP. Données anatomo-clinique et viriologique dans vingt cas de maladie de Bowen vulvaire. Ann Dermatol Venereol 1985; 112: 749.
62. Haefner HK, Tate JE, Mclachlin CM, Cum CP. Vulvar intraepithelial neoplasia. Age, morphological phenotype, papillomavirus DNA and coexisting invasive carcinoma. Hum Pathol 1995; 26: 147.
63. Leibowitch M, Neill S. Pelisse M & Moyal-Barraco M. The epithelial changes associated with squamous cell carcinoma of the vulva: a review of the clinical, histopathological and viral findings in 78 women. Br J Obstet Gynaecol 1990; 97: 1135.
64. Pelisse M & Paniel BJ. Néoplasie vulvaire épithéliale, maladie de Bowen et papulose bowénoide. Clinique et traitement. In: Age et reproduction. Ménopause. Pathologie vulvaire. Paris, Masson, 1994. pp. 95-99.
65. Almeida Filho GL. Neoplasia intra-epithelial vulvar: estudo clínico e histopatológico. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 1998.
66. Fiorica JV, Cavanagh D, Marsden DE, Shepherd J, Ruffolo EH, Songster CL. Carcinoma in situ of the vulva: 24 years' experience in Southwest Florida. Southern Med J 1988; 81: 589.
67. Campagne G, Roca M, Martinez A. Successful treatment of a high-grade intraepithelial neoplasia with imiquimod, with vulvar pemphigus as a side effect. Europ J Obstet Gynecol Reprod Biol 2003; 109(2): 224.
68. Richter ON, Petrow W, Wardelmann E, Dorn C, Kupka M, Ulrich U. Bowenoid papulosis of the vulva – immunotherapeutical approach with tropical imiquimod. Arch Gynecol Obstet 2003; 268(4): 333.
69. Marchitelli C, Secco G, Perrotta M, Lugones L, Pesce R, Testa R. Treatment of Bowenoid and basaloid vulvar intraepithelial neoplasia 2/3 with imiquimod 5% cream. J. Reprod Med 2004; 49(11):876.
70. Wendling J, Saiaq P, Berville-Levy S, Bourgault-Villada I, Clerici T, Moyal-Barraco M. Treatment of undifferentiated vulvar intraepithelial neoplasia with 5% imiquimod cream: a prospective study of 12 cases. Arch Dermatol 2004; 140(10): 1220.
71. Riethmuller D, Gay C, Bertrand X, Bettinger D, Schaal JP, Carbillet JP, et al. Genital human papillomavirus infection among women recruited for routine cervical cancer screening or for colposcopy determined by Hybrid Capture II and polymerase chain reaction. Diagn Mol Pathol 1999; 8: 157-64.
72. Molijn A, Kleter B, Quint W, van Doorn LJ. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. J Clin Virol 2005; 325: S43-S51.
73. Snoeck R, Andrei G, De Clercq E. Specific therapies for human papilloma virus infections. Curr Opin Infec Dis 1998; 11: 733-737.
74. Lacey CJ. Therapy for genital human papillomavirus-related disease. J Clin Virol 2005; 32 (Suppl. 1): S82-S90.
75. Fox PA, Tung MY. Human papillomavirus: burden of illness and treatment cost considerations. Am J Clin Dermatol 2005; 6: 365-381.
76. Severson J, Evans TY, Lee P, Chan T, Arany I, Tyring SK. Human Papillomavirus Infections: Epidemiology, Pathogenesis, and Therapy. J Cut Med Surg 2001; 5(1): 43-60.
77. Centers for Disease Control and Prevention. 1993 sexually transmitted diseases treatment guidelines. MMWR 1993; 43: 78-80.
78. Centers for Disease Control and Prevention. 1998 sexually transmitted diseases treatment guidelines. MMWR 1997; 47: 88-95.
79. Isolan TB, Almeida Filho GL, Passos MRL, Bravo RS. Estudo comparativo de diferentes formas de tratamento de condilomas acuminados. DST- J bras Doenças Sex Transm 2004; 16(2): 23-27.
80. Ferenczy A, Behelak Y, Haber G, et al. Treating vaginal and external anogenital condylomas with electrosurgery vs CO2 laser ablation. J Gynecol Surg 1995; 11: 41-50.
81. Stone KM. Human papillomavirus infection and genital warts: update on epidemiology and treatment. Clin Infect Dis 1995; 20: S91-S97.
82. Abdullah AN, Walzman M, Wade A. Treatment of external genital warts comparing cryotherapy (liquid nitrogen) and trichloroacetic acid. Sex Transm Dis 1993; 20: 344-345.
83. Arena S, Marconi M, Frega A, Villani C. Pregnancy and condyloma: evaluation about therapeutic effectiveness of laser CO2 on 115 pregnant women. Minerva Ginecol 2001; 53: 389-96.
84. Pride GL. Treatment of large lower genital tract condylomata acuminata with topical 5-fluorouracil. J Reprod Med 1990; 35: 384-387.
85. Godley MJ, Bradbeer CS, Gellan M, et al. Cryotherapy compared with trichloroacetic acid in treating genital warts. Genitourin Med 1987; 63: 390-392.
86. Edwards A, Atma-Ram A, Thin RN. Podophyllotoxin 0.5% vs podophyllin 20% to treat penile warts. Genitourin Med 1988; 64: 263-265.

87. Frazer PA, Lacey CJM. Podophylotoxin is superior to podophyllin in the treatment of genital warts. *J Eur Acad Venereol* 1993; 2: 328-334.
88. Coleman N, Birley HDL, Renton AM et al. Immunological events in regressing genital warts. *Am J Clin Pathol* 1994; 102: 768-774.
89. Richwald GA. Imiquimod. *Drug Today (Barc)* 1999; 35(7): 497-511
90. Tygum KL, Smith SL, Myers JA et al. Percutaneous penetration of [<sup>14</sup>C]-imiquimod from a single application of cream. *Pharm Res* 1995; 12(9, Suppl.): Abstr PDD 7339.
91. Garland SM. Imiquimod. *Curr Opin Infect Dis* 2003; 16(2):85-89.
92. Stanley MA. Imiquimod and the imidazoquinolones: mechanism of action and therapeutic potential. *Clin Expert Dermatol* 2002; 27: 571-577.
93. Hengge UR, Benninghoff B, Ruzicka T, Goos M. Topical immunomodulators: progress towards treating inflammation, infection and cancer. *Lancet Infect Dis* 2001; 1: 189-198.
94. Marini M. Imiquimod 5% cream: a topical immune response modifier. *Int J Dermatol* 2002; 41(Suppl 1): 1-2.
95. Testerman TL, Gerster JF, Imbertson LM et al. Cytokine induction by the immunomodulators imiquimod and S-27609. *J Leukocyte Biol* 1995; 58: 365-72.
96. Megyeri K, Au WC, Rosztochy I, et al. Stimulation of interferon and cytokine gene expression by imiquimod and stimulation by Sendai virus utilize similar transduction pathways. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 2207-18.
97. Imbertson LM, Beurline Jm, Couture AM et al. Cytokine induction in hairless mouse and rat skin after topical application of the immune response modifiers imiquimod and S-28463. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 734-739.
98. Harrison CJ, Janski L, Voychekovski T, Bernstein DI. Modification of immunological response and clinical disease during topical R-837 treatment of genital HSV-2 infection. *Antiviral Res* 1998; 10: 209-224.
99. Chen M, Griffith BP, Lucia HL, Hsiung GD. Efficacy of S-26308 against guinea pig cytomegalovirus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 32:678-683.
100. Sydky YA, Borden EC, Weeks CE, Reiter MJ, Hatcher JF, Bryan GT. Inhibition of murine growth by an interferon-inducing imidazoquinolinamine. *Cancer Res* 1992; 52: 3528-3533.
101. Tying SK, Arany I, Stanley MA, Tomai MA, Miller RL, Smith MH, McDermott DJ, Slade HB. A randomized, controlled, molecular study of condylomata acuminata clearance during treatment with imiquimod. *J Infect Dis* 1998; 178(2): 551-555.
102. Edwards L, Ferenczy A, Eron L, et al. Self-administered topical imiquimod 5% cream for external anogenital warts. *Arch Dermatol* 1998; 134: 25-30.
103. Beutner KR, Spruance SL, Hougham AJ et al. Treatment of genital warts with an immune-response modifier (imiquimod). *J Am Acad Dermatol* 1998; 38: 230-239.
104. Buck HW, Fortier M, Knudeen J, Paavonen J. Imiquimod 5% cream in the treatment of anogenital warts in female patients. *Int J Gyn Obstet* 2002; 77: 231-238.
105. Hoyme UB, Hegedorn M, Schindler AE, et al. Effect of adjuvant imiquimod 5% cream on sustained clearance of anogenital warts following laser treatment. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2002; 10: 79-88.
106. Carrasco D, vander Straten M, Tying S. Treatment of anogenital warts with imiquimod 5% cream followed by surgical excision of residual lesions. *J Am Acad Dermatol* 2002; 47(4 Suppl): S212-S216.
107. Conant MA, Opp KM, Gilson RJ, et al. A vehicle-controlled safety and efficacy trial evaluating 5% imiquimod cream for the treatment of genital / perianal warts in HIV-positive patients. 56th Annu Meet Am Acad Dermatol (Feb 27-Mar 4, Orlando, FL) 1998, Abstr 225.
108. CDC Sexually Transmitted Disease Guidelines. Genital warts. *MMWR*. 2006; 55: 62-67.
109. Maitland JE, Maw R. An audit of patients who have received imiquimod cream 5% for the treatment of anogenital warts. *Int J STD AIDS*. 2000; 11: 268-270.
110. Gross G. Treatment of Human Papillomavirus infection and associated epithelial tumors. *Intervirology* 1997; 40: 368-377.
111. Cox JT. Genital Warts: Best Practices for Diagnosis and Management 2006, Available on: [www.medscape.com](http://www.medscape.com). Acessado em 17/06/2008.
112. Scheinfeld N, Lehman DS. An evidence-based review of medical and surgical treatments of genital warts. *Dermatol Online J*. 2006; 12: 5.
113. Trofatter Jr JF. Imiquimod in clinical practice. *Eur J Dermatol* 1998; 8: 17-19.
114. Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol*. 2005; 32(Suppl 1): S16-S24.
115. Winer RL, Hughes JP, Feng Q, et al. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med*. 2006; 354: 2645-2654.
116. Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Ault KA et al. *Lancet Oncol*. 2005; 6:271-278.
117. Harper DM, Franco EL, Wheeler C, Ferris DG, Jenkins D et al. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women; a randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 364: 1757-65.
118. Frazer IH, Cox JT, Mayeaux EJ et al. Advances in prevention of cervical cancer and other human papillomavirus-related diseases. *Pediatr Infect Dis J*. 2006; 25(2 Suppl): S65-S81.
119. Saslow D, Runowicz CD, Solomon D et al. American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. *CA Cancer J Clin* 2002; 52: 342-62.
120. Wright TC Jr, Cox JT, Massad LS, Twigg LB, Wilkinson EJ. 2001. Consensus guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA* 2002; 287: 2120-9.

**Endereço para Correspondência:**

**MAURO ROMERO LEAL PASSOS**

Setor de DST, Universidade Federal Fluminense

Rua Ernani Melo, 101, anexo. Centro.

Niterói, RJ.

CEP: 24220-100

E-mail: [maurodst@vm.uff.br](mailto:maurodst@vm.uff.br)

Recebido em: 21/10/2008

Aprovado em: 23/01/2009



# BIOMARCADORES NA TRIAGEM DO CÂNCER DO COLO UTERINO

## BIOMARKERS IN CERVICAL CANCER SCREENING

Lara Termini<sup>1</sup> & Luisa Lina Villa<sup>1</sup>

### RESUMO

A infecção persistente por papilomavírus humano (HPV) é o principal fator de risco para o câncer do colo uterino e de suas lesões precursoras. Programas de triagem que utilizam a citologia oncológica (exame de Papanicolaou) levaram a uma diminuição significativa na incidência deste tipo tumoral, apesar de suas limitações na detecção de atipias leves e adenocarcinomas. Em vista disso, a identificação de novos biomarcadores que permitam monitorar eventos moleculares associados à progressão tumoral em amostras histológicas ou citológicas, poderá melhorar a detecção de lesões com maior risco de progredirem. A simples detecção do DNA de HPV como principal parâmetro na triagem do câncer do colo uterino e de suas lesões precursoras é ainda um ponto controverso por ter um valor preditivo positivo baixo. Por outro lado, o desenvolvimento de tecnologias que detectem e quantifiquem os transcritos dos oncogenes virais E6 e E7, estão sendo consideradas para a avaliação precisa da atividade oncogênica viral associada à progressão tumoral. Além disso, análises detalhadas das interações das oncoproteínas de HPV e seus alvos celulares permitirão definir possíveis novos biomarcadores. Um dos principais exemplos é o aumento da expressão da proteína inibitória das quinases dependentes de ciclina p16<sup>ink4a</sup> promovida pela presença de E7. Diversos estudos utilizam o aumento da expressão da proteína p16<sup>ink4a</sup> para identificar células displásicas em amostras histológicas e esfregaços cervicais. Esta revisão foca algumas das principais linhas de pesquisa na identificação de biomarcadores e sua possível utilização na triagem do câncer cervical e de suas lesões precursoras.

**Palavras-Chave:** papilomavírus humano, câncer do colo uterino, biomarcadores, p16

### ABSTRACT

Persistent infection with oncogenic human papillomavirus (HPV) is the main risk factor for cervical cancer and its precursor lesions. Cytological screening programs using the Pap test have led to a substantial reduction in the incidence of cervical cancer despite its limitation in detecting minor atypias and adenocarcinomas. Therefore, the identification of new biomarkers that allow the monitoring of molecular events associated to tumor progression in histological or cytological specimens may improve the detection of lesions with higher risk of progression. HPV DNA detection as a primary screening parameter has been controversially discussed due to its very low predictive value. On the other hand, the development of new technologies for the determination of high risk HPV activity by detecting E6 and E7 transcripts has the potential to more accurately evaluate tumor progression. Moreover, the detailed analysis of HPV oncoproteins and cellular targets will allow the definition of new possible biomarkers. One of the best examples is the up-regulation of the cyclin dependent kinase inhibitor p16<sup>ink4a</sup> expression by E7. Several studies use p16<sup>ink4a</sup> overexpression to identify dysplastic cells in histological samples and cytological smears. This review focuses on biomarkers studies and their possible role in screening cervical cancer and precursor lesions.

**Keywords:** human papillomavirus, cervical cancer, tumor biomarkers, p16

## INTRODUÇÃO

Determinar o risco de desenvolvimento e o prognóstico, bem como o sucesso do tratamento em resposta a uma determinada medicação e/ou procedimento, constituem a principal razão para a identificação de marcadores biológicos ou biomarcadores. Nesse sentido, um dos exemplos clássicos diz respeito ao prognóstico das neoplasias malignas, cuja identificação se tornou um dos maiores desafios da medicina moderna. A principal estratégia na prevenção e no controle deste tipo de doença é sua detecção precoce, permitindo que intervenções e terapias efetivas possam contribuir para a redução da mortalidade e morbidade por câncer.

Os biomarcadores tumorais são indicadores do estado fisiológico e de alterações que ocorrem durante o processo neoplásico. A expressão destes marcadores pode refletir diversos processos em andamento nas células tumorais, tais como hiperproliferação, alteração de padrões de expressão gênica, hiperplasia, genotoxicidade, inflamação e alterações enzimáticas relacionadas com o desenvolvimento tumoral, entre outros. Um biomarcador tumoral ideal possui relação direta com o processo maligno, correlaciona-se com a massa tumoral, permite a caracterização do tipo de tumor, a localização, o estadiamento do tumor, bem como fornece uma avaliação prognóstica do tumor em questão<sup>1</sup>.

Ao longo das últimas duas décadas, diversos estudos epidemiológicos e laboratoriais têm demonstrado que o carcinoma do colo uterino é uma doença complexa com múltiplos determinantes ambientais e genéticos. As infecções genitais, especialmente as associadas ao papilomavírus humano (HPV) de alto risco, e o comprometimento da resposta imune celular são fatores diretamente envolvidos no processo de transformação maligna<sup>2</sup>. O carcinoma do colo uterino apresenta-se como a segunda neoplasia mais prevalente dentre a população feminina mundial e é responsável por cerca de 250.000 mortes a cada ano no mundo. No Brasil, esta neoplasia situa-se como a terceira mais comum dentre a população feminina, apenas suplantada pelo câncer de pele (não melanoma) e o câncer de mama, sendo a quarta causa de morte feminina por câncer<sup>3</sup>. O desenvolvimento do câncer do colo uterino está diretamente relacionado à infecção persistente pelo HPV<sup>4</sup>. Estimativas mundiais indicam que aproximadamente 20% de indivíduos normais estão infectados com HPV e que a cada ano surgem em torno de 500.000 casos novos de câncer de colo uterino, dos quais em torno de 70% ocorrem em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento. Além disso, acredita-se que nestas regiões ocorram de 10 a 20 vezes mais lesões precursoras deste tipo tumoral, o que significa um número elevado de indivíduos acometidos por esta doença<sup>5</sup>.

Atualmente, existem dois tipos de vacinas profiláticas. A vacina bivalente previne a infecção e doenças causadas pelos HPV 16 e 18, enquanto a tetravalente protege contra os HPV 6, 11, 16 e

<sup>1</sup>Ludwig Institute for Cancer Research – São Paulo Branch.

18. A utilização destas vacinas prevê uma redução significativa na mortalidade e na morbidade associadas às infecções por HPV, que afetam centenas de milhões de indivíduos a cada ano em todo o mundo<sup>6-9</sup>. Apesar da alta eficácia comprovada destas vacinas e de sua promissora utilização, vale a pena ressaltar suas limitações. Estas vacinas não protegem contra todos os tipos de HPV e não tratam lesões preexistentes HPV positivas. Além disso, a duração de seu efeito protetor ainda não está estabelecida, devido ao fato de os estudos ainda estarem em andamento. A durabilidade do efeito destas vacinas foi avaliada por apenas 5 anos para a vacina quadrivalente<sup>10</sup> e por 6 anos e meio para a vacina bivalente<sup>7,11</sup>. Atualmente, diversos grupos em todo o mundo têm testado estratégias para o desenvolvimento de vacinas terapêuticas contra o HPV, uma vez que as vacinas profiláticas não têm efeito na eliminação de lesões e tumores do colo uterino associados ao HPV. O objetivo destes estudos é a quebra da tolerância estabelecida por proteínas virais e promover resposta imune celular contra antígenos de HPV, principalmente as proteínas E6 e E7. Existem estudos clínicos em andamento com vacinas desenvolvidas contra peptídeos de E6 e E7 de HPV16, mas nenhum deles tem resultados definitivos. Resultados preliminares mostram o surgimento de populações de linfócitos CD4 e CD8 responsivos aos antígenos virais E6 e E7 e que têm capacidade de produção de INF- $\alpha$ <sup>12</sup>.

Pelo exposto, a identificação e a utilização de ferramentas que possam complementar tanto o diagnóstico como o rastreamento das lesões precursoras do câncer do colo uterino é ainda de suma importância. Uma vez que a grande maioria das lesões precursoras do câncer do colo uterino regride espontaneamente, a identificação de lesões que realmente necessitam ser tratadas evitaria a utilização de tratamentos agressivos desnecessários, enquanto as lesões com maior chance de progredirem seriam passíveis de tratamento antes do desenvolvimento de um câncer invasivo<sup>13,14</sup>.

## TESTES VIGENTES NO RASTREAMENTO DE LESÕES DO COLO UTERINO

### *Exame de Papanicolaou (citologia oncológica)*

O exame de citologia oncológica (Papanicolaou) ainda constitui o principal método utilizado para a detecção do câncer do colo uterino e de suas lesões precursoras. Esta técnica, descrita por George Papanicolaou, em 1941, consiste na avaliação morfológica das células de esfregaços obtidos da superfície do colo uterino. Diversos critérios são utilizados para a avaliação do grau de alteração das células, entre eles, relação núcleo/citoplasma, formato nuclear, intensidade de marcação nuclear e arquitetura da cromatina. Atualmente, a classificação de Bethesda é uma das mais utilizadas para o diagnóstico citológico das amostras provenientes do colo uterino e categoriza as células anormais em lesões intraepiteliais de baixo grau (L-SIL) e lesões intraepiteliais de alto grau (H-SIL)<sup>15</sup>. As lesões de baixo grau representam, na sua grande maioria, modificações morfológicas associadas à replicação ativa do HPV (por exemplo, a coilocitose), enquanto as lesões de alto grau indicam a transformação celular, caracterizada principalmente por alterações nucleares. Amplos estudos epidemiológicos têm demonstrado um grande impacto na redução das taxas de incidência do câncer do colo uterino e de suas

lesões precursoras, quando utilizada esta metodologia para o rastreamento desta doença<sup>5</sup>.

Apesar de sua grande especificidade, esta metodologia possui sensibilidade limitada na detecção de lesões precursoras do colo uterino, fato atribuível à variação da interpretação deste método. Este método apresenta uma variabilidade de 34 a 94% na detecção de lesões de alto grau, além de não ser determinante na classificação das amostras atípicas definidas como “células escamosas atípicas de significância não determinada” (ASCUS)<sup>16</sup>. A repetição deste tipo de exame se faz necessária para compensar sua baixa sensibilidade. Esta tem sido uma opção utilizada na clínica e que permite rastrear com maior segurança mulheres que porventura apresentem alguma alteração no colo uterino. Vale a pena ressaltar que este tipo de teste possui baixo custo relativo, mas a necessidade de repetições frequentes influencia na elegibilidade deste método para rastreamento desse tipo de lesão<sup>17</sup>.

Desta forma, existem controvérsias na literatura quanto à utilização deste exame como triagem única na detecção de lesões precursoras do câncer do colo uterino, principalmente na detecção de adenocarcinomas e de suas lesões precursoras, em que este teste não se mostrou suficientemente sensível. Entretanto, quando bem realizado, o que inclui coleta, processamento e leitura das lâminas, este exame ainda é de fundamental importância no rastreamento do câncer do colo uterino e de suas lesões precursoras<sup>18-21</sup>.

### Positividade para HPV

O estabelecimento do HPV como agente etiológico do câncer do colo uterino promoveu, nas duas últimas décadas, o desenvolvimento de diversas metodologias utilizadas para sua detecção. Desta forma, além do teste de Papanicolaou, a detecção da presença do HPV é atualmente utilizada na triagem de lesões do colo uterino em países como a Holanda. A pesquisa do DNA de HPV é considerada altamente eficaz na detecção de lesões de alto grau, uma vez que a grande maioria destas é positiva para HPV de alto risco. Além disso, este tipo de teste pode ser realizado concomitantemente ao exame de Papanicolaou e pode auxiliar na determinação do diagnóstico e tratamento de lesões precursoras de baixo grau que não apresentaram alterações evidentes na avaliação citológica. Finalmente, este método pode ser utilizado no acompanhamento de possíveis recidivas após o tratamento de lesões precursoras de alto grau e do câncer do colo uterino<sup>22,23</sup>. Características epidemiológicas da infecção por HPV geram controvérsias sobre a utilização deste tipo de triagem. Devido à alta prevalência de infecções assintomáticas, a mera detecção do HPV de alto risco tem um baixo valor preditivo positivo para a presença da displasia do colo uterino, uma vez que as taxas de prevalência para este tipo viral em mulheres sem lesões variam de 20 a 40%<sup>24</sup>. Por outro lado, como a persistência da infecção por HPV de alto risco e o câncer do colo uterino estão diretamente relacionados, os testes negativos para a presença viral conferem um alto valor preditivo negativo para o desenvolvimento desta doença. Desta forma, testes negativos para a presença de HPV de alto risco tornam-se de suma importância para a triagem de mulheres que apresentam esfregaço do colo uterino alterado<sup>25</sup>.

Tecnologias que permitam detectar e quantificar os transcritos dos oncogenes virais E6 e E7 são estratégias atuais que visam avaliar a atividade oncogênica viral. Os principais eventos que provocam a transformação do epitélio do colo uterino são desencadeados pela expressão desregulada dos oncogenes virais E6 e E7 dos HPV de alto risco nas células replicativas basais e parabasais do epitélio infectado. Diversos estudos revelam um padrão complexo de interações das oncoproteínas E6 e E7, com proteínas celulares envolvidas no controle de ciclo celular, apoptose, diferenciação epitelial e homeostase/estabilidade cromossômicas, confirmando o papel do HPV na carcinogênese viral<sup>26</sup>. Em vista disso, a detecção do RNA de HPV de alto risco é considerada atualmente um dos principais fatores de risco na triagem de lesões de alto grau com maior chance de progredirem para o câncer do colo uterino. Vale a pena citar que a grande maioria das infecções promovidas por este vírus é eliminada em aproximadamente 1 ano, e que apenas uma baixa porcentagem destas persiste, induzindo lesões displásicas que podem progredir para o câncer. O DNA viral pode ser detectado desde lesões benignas, como por exemplo, o condiloma acuminado, até lesões malignas. Por este motivo, a pesquisa dos transcritos E6 e E7 de HPV de alto risco aumentaria a especificidade e sensibilidade destes testes na triagem de lesões com maior chance de progredirem, quando comparada à simples detecção de DNA de HPV<sup>27</sup>.

## IDENTIFICAÇÃO DE BIOMARCADORES ASSOCIADOS À EXPRESSÃO DESREGULADA DOS ONCOGENES DE HPV

A detecção de alterações celulares originadas pela expressão desregulada das oncoproteínas virais pode vir a caracterizar marcadores de progressão tumoral e contribuir, desta forma, para a identificação de populações celulares com maior risco de progredirem para o câncer do colo uterino. A identificação e o estabelecimento do padrão de alteração destes fatores poderão definir marcadores com alto poder preditivo positivo. A utilização destes marcadores complementarará o resultado de outros exames de triagem na identificação de lesões com maior risco de progressão maligna<sup>22</sup>. As principais linhas de investigação associadas aos aspectos anteriormente mencionados focam, sobretudo, a identificação de proteínas celulares/teciduais ou circulantes, cuja expressão se encontre alterada em resposta à expressão das oncoproteínas virais; a pesquisa de alterações no padrão de metilação de diversos genes celulares que poderão predizer eficientemente a iniciação neoplásica; as modificações nos cromossomos e/ou genoma viral em regiões distintas e reconhecidamente modificadas pelo evento da integração viral; a identificação de polimorfismos de genes associados a um melhor prognóstico. A seguir, serão discutidos os avanços recentes sobre a identificação de potenciais biomarcadores associados ao câncer do colo uterino e a sua possível utilização na triagem desta doença.

### Avaliação dos níveis de proteínas envolvidas no controle do ciclo celular

A infecção pelo HPV promove a replicação desregulada do genoma hospedeiro e, desta forma, diversas proteínas envolvi-

das no controle do ciclo celular têm seus níveis aumentados ou diminuídos. Assim, diversos estudos visam a análise dos níveis de proteínas relacionadas com este evento. Entre elas, os principais exemplos descritos na literatura são p53, p16<sup>INK4a</sup>, MCM2-7, EGFR, ciclina D, ciclina E, p21<sup>WAF1</sup>, p27<sup>KIP1</sup>, entre outras<sup>19,22,28</sup>. O maior número de estudos encontrados na literatura foca a avaliação dos níveis da proteína p16<sup>INK4a</sup> em amostras do colo uterino, tanto em cortes histológicos quanto em amostras derivadas de esfregaços cervicais. Sabe-se que as proteínas E6 e E7 de HPV promovem a degradação das proteínas supressoras de tumor p53 e pRb celulares, respectivamente. Esta interferência ativa um processo de retroalimentação negativo que resulta na expressão exacerbada da proteína inibitória dos complexos de quinases dependentes de ciclina, p16<sup>INK4a</sup><sup>29</sup>.

Diversos estudos descrevem o aumento da expressão desta proteína em lesões de alto grau e câncer do colo uterino em cerca de 100% das amostras analisadas, de forma contrária ao observado no epitélio normal da mucosa do colo uterino, onde p16<sup>INK4a</sup> praticamente não é detectada. Aproximadamente 60% das lesões intraepiteliais de baixo grau são fortemente positivas para p16<sup>INK4a</sup> (células proliferativas da camada basal e/ou parabasal), enquanto as 40% restantes não apresentam níveis detectáveis desta proteína, apesar de serem positivas para o DNA de HPV e apresentarem características morfológicas associadas a infecção (coilocitose, entre outros). Esta observação sugere que apenas uma parte das lesões de baixo grau infectadas por HPV apresenta a expressão desregulada das oncoproteínas virais nas células basais e parabasais, enquanto nas lesões negativas para p16<sup>INK4a</sup>, a expressão destas oncoproteínas seria muito baixa ou até mesmo nula neste tipo celular. Desta forma, as lesões de baixo grau que não apresentassem níveis elevados de p16<sup>INK4a</sup> nas células da camada basal e/ou suprabasal teriam menor chance de progredirem para lesões de alto grau ou câncer. Vale a pena ressaltar que níveis elevados de p16<sup>INK4a</sup> estão associados a lesões infectadas por HPV de alto risco. O mesmo efeito não é observado nas lesões positivas para HPV de baixo risco<sup>30-34</sup>. A análise desta proteína em amostras originadas de esfregaços do colo uterino mostrou um aumento de expressão de p16<sup>INK4a</sup> em 98% das amostras derivadas de lesões de alto grau. Desta forma, além da pesquisa desta proteína em biópsias do colo uterino, sua pesquisa em esfregaços poderia ser uma opção na triagem primária de lesões do colo uterino cuja classificação não tenha sido determinada através de citologia oncológica<sup>26,30</sup>. Diversos estudos prospectivos estão em andamento para confirmar uma possível utilização da proteína p16<sup>INK4a</sup> no rastreamento inicial do câncer do colo uterino e de suas lesões precursoras.

## MARCADORES DE INSTABILIDADE CROMOSSÔMICA

### *Aneuploidia do DNA hospedeiro*

Alguns estudos mostram que a desregulação da expressão dos oncogenes virais promove instabilidade genômica nas células hospedeiras. A principal característica observada é a presença de aneuploidia, ou seja, alteração do número de cromossomos presentes nas células. Consequentemente, a aneuploidia caracterizaria

lesões HPV positivas, incluindo desta forma as lesões precursoras e o câncer. Alguns estudos indicam que a presença de aneuploidia precede a integração viral no genoma do hospedeiro em lesões displásicas avançadas, inferindo que a integração viral seria uma consequência e não a causa da instabilidade cromossômica<sup>35,36</sup>.

## Integração do HPV

Acredita-se que o DNA do HPV se integre aleatoriamente no genoma hospedeiro durante o processo de reparo que é desencadeado após o surgimento de quebras na dupla fita de DNA do genoma celular. A integração viral seria um indicador de instabilidade genômica durante o processo de transformação celular, uma vez que 80 a 90% das amostras originadas de câncer cervical apresentam DNA de HPV integrado<sup>37</sup>. Diversas metodologias são descritas e utilizadas para a detecção da integração do DNA de HPV no genoma viral, como por exemplo a técnica de PCR em tempo real, que permite obter uma razão entre os níveis dos genes E2 (frequentemente interrompido na integração viral) e E6/E7 de HPV. Quando não integrado, o genoma viral apresentaria uma razão de 1:1 entre os genes E2 e E6/E7 e na integração do genoma viral ocorreria uma diminuição na detecção do gene E2<sup>38</sup>. Contudo, uma porcentagem significativa de lesões de baixo grau e de alto grau apresenta cópias do HPV em sua forma episomal, além de cópias integradas. Este aspecto interfere na quantificação direta do número de cópias virais integradas. Além disso, alguns estudos avaliam o sítio de integração do HPV no genoma viral. Esta metodologia poderia ser válida no acompanhamento de mulheres após tratamento prévio, uma vez que o sítio de integração identificado poderia ser utilizado como um marcador tumoral em uma possível reicidiva<sup>39</sup>.

## AValiação DE POLIMORFISMOS E EVENTOS EPIGENÉTICOS

### Polimorfismo no gene p53

Na última década, diversos estudos associaram a presença de polimorfismos no códon 72 do gene p53 a um melhor ou pior prognóstico em pacientes com carcinomas epidermóides do colo uterino. Dados apontaram que a proteína p53 contendo o aminoácido arginina na posição 72 é mais suscetível à degradação promovida por E6 do que a proteína contendo o aminoácido prolina nesta mesma posição. Além disso, este mesmo estudo verificou que pacientes homocigotos para arginina tinham maior risco de desenvolver uma lesão maligna associada ao HPV, quando comparados aos portadores heterocigotos e homocigotos para prolina<sup>40,41</sup>. Esses dados, entretanto, são alvo de grande controvérsia, uma vez que as observações realizadas por diversos estudos são contraditórias<sup>42-44</sup>.

### Avaliação de eventos epigenéticos

A metilação é o principal fenômeno epigenético pelo qual um gene é silenciado, sendo um importante meio de regulação da expressão gênica. Este processo ocorre através da adição de um radical metila, ligado covalentemente às citosinas presentes na estrutura do DNA. Locais particularmente suscetíveis ao efeito

da metilação são os dinucleotídeos CpG, que contêm as bases citosina e guanina adjacentes. A maioria desses dinucleotídeos localiza-se em pequenas regiões, denominadas ilhas CpG, que em células normais se encontram desmetiladas. Estas regiões geralmente são encontradas nas sequências regulatórias presentes na extremidade 5' de cada gene, onde se localizam os promotores gênicos. A metilação destas regiões interrompe a transcrição dos genes através do silenciamento de seus promotores.

Além disso, este evento também pode ser observado na estrutura das histonas (proteínas associadas às moléculas de DNA e que determinam o grau de compactação da cromatina). Uma vez adicionado o radical metila nas citosinas, ocorre a desacetilação das histonas, tornando a cromatina mais condensada e, portanto inacessível à maquinaria de transcrição. Outra função normal desse tipo de alteração epigenética é a proteção do genoma do hospedeiro frente a sequências de DNA pertencentes a outros organismos, como por exemplo o DNA de origem viral, que podem ser inativadas através da adição de radicais metila.

Por outro lado, existem algumas situações em que a metilação contribui para processos patogênicos, dentre eles o mais amplamente estudado é o câncer. Atualmente, considera-se que a hipermetilação de determinadas regiões do DNA é um fator diretamente relacionado com a formação tumoral. Este evento pode interferir de diversas formas no processo de carcinogênese. Um dos principais exemplos é a metilação de regiões promotoras de genes supressores de tumor. A principal função das proteínas originadas dos genes supressores de tumor é o controle da proliferação celular. Desta forma, a perda deste tipo de regulação está diretamente relacionada aos processos neoplásicos. A hipermetilação da região 5' do gene que codifica para a proteína do retinoblastoma (pRB) é um dos principais exemplos descritos na literatura sobre o silenciamento de um gene supressor de tumor e o processo de carcinogênese. Ainda não estão bem definidos os fatores que levam à metilação de alguns genes apenas em determinados tipos celulares. Sabe-se que células senescentes e/ou que sofreram ação de fatores ambientais, tais como radiação, fumo, exposição a determinados vírus, entre outros aspectos, apresentam maior incidência de hipermetilação em genes associados ao processo neoplásico<sup>45</sup>.

Em tumores do colo uterino, a metilação de diversos genes é descrita. Os principais exemplos são *DcR1/DcR2*, *hTERT*, *p73*, *p16*, *PTEN*, *E-caderina*, *APC*, *MGMT*, *FANCF*, *BRAC1*, *hMLH1*, *RASSF1A*, *DAPK*, *TSLC1*, *FHIT*, *HIC1*, *RARβ*, *TIMP2/TIMP3*, *CAV-1*, *Era*, entre outros. Os resultados destes estudos não determinam um padrão estabelecido de metilação em um amplo grupo de amostras, mas prometem contribuir no prognóstico de tumores do colo uterino<sup>26,46</sup>.

## ALTERAÇÕES NA EXPRESSÃO GÊNICA

Existem diversos estudos na literatura que visaram identificar genes diferencialmente expressos entre linhagens imortalizadas/transformadas com HPV ou amostras do colo uterino, utilizando a técnica de *cDNA microarray*. Entre eles, foram comparadas linhagens tumorigênicas e não tumorigênicas HPV16 positivas, com a identificação de 49 genes diferencialmente expressos, como por exemplo o gene C4.8, cuja proteína está associada à proliferação celular e sua expressão encontra-se aumentada em lesões de alto

grau<sup>47,48</sup>. Outros estudos visaram compor assinaturas gênicas capazes de diferenciar um tecido normal do colo uterino de cânceres de diferentes estádios. Além disso, através destas assinaturas os autores puderam diferenciar carcinomas do colo uterino nos estádios Ib e IIb, além de prever sua resposta à radioterapia<sup>49</sup>. Um estudo comparando o perfil de expressão gênica entre carcinomas cervicais e queratinócitos normais identificou mais de 500 genes diferencialmente expressos, entre eles alguns biomarcadores já descritos em estudos da transformação mediada por HPV, como CDKN2A/ p16<sup>INK4a</sup>, topoisomerase 2A, entre outros possíveis biomarcadores<sup>50</sup>. Por fim, um estudo identificou como diferencialmente expressos os transcritos da caliceína 7 e da superóxido dismutase 2, quando comparadas linhagens imortalizadas com HPV16 e HPV18 a culturas primárias de queratinócitos normais<sup>51</sup>.

## ALTERAÇÃO DA EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS SÉRICAS

### Marcadores circulantes identificados através da técnica SELDI

Estudos recentes utilizaram uma abordagem baseada nos estudos de proteômica, denominada SELDI (*surface enhanced laser desorption and ionization mass spectrometry*), para identificar biomarcadores circulantes em mulheres com câncer cervical. De fato, essa técnica permite o rastreamento de centenas de proteínas diferencialmente expressas presentes em fluidos corpóreos como plasma, saliva, urina, entre outros. Alguns estudos descrevem perfis de proteínas plasmáticas capazes de discriminar pacientes com e sem câncer do colo uterino, com sensibilidade e especificidade que variam de 87 a 92% e 97 a 100%, respectivamente<sup>52,53</sup>. Estes estudos ainda não são conclusivos, mas prometem identificar proteínas circulantes diferencialmente expressas quando comparados soros de mulheres que possuem ou não o câncer do colo uterino.

Além disso, outros marcadores circulantes foram analisados para detectar este tipo de câncer, entre eles as proteínas IGF-2, VEGF-C e o CIFRA<sup>54-56</sup>. Recentemente, a metilação dos genes CDH1 e CDH2 foi analisada em amostras séricas<sup>57</sup>. Vale ressaltar que estes marcadores ainda estão em estudo e necessitam de avaliações adicionais.

### Resposta humoral contra o HPV

A análise de anticorpos circulantes contra os antígenos do HPV não é utilizada como ferramenta na triagem de câncer cervical, uma vez que não existem testes padronizados com esta finalidade. Contudo, o desenvolvimento de novas técnicas que possibilitem uma ampla avaliação dos antígenos de HPV abre novas possibilidades para sua utilização, não apenas no rastreamento de lesões e câncer do colo uterino associados ao HPV, como também no monitoramento pós-aplicação de vacinas profiláticas<sup>12,58,59</sup>.

### Marcadores circulantes adicionais com potencial utilização na clínica

Na literatura são citados apenas três possíveis marcadores que podem contribuir na clínica para a complementação do seguimen-

to da paciente após o tratamento do câncer cervical<sup>60,61</sup>. Para carcinomas epidermóides, o antígeno de carcinomas de células escamosas (SCCA) é o mais indicado. Esta proteína é uma subfração de TA-4, um antígeno associado a tumores e que pertence à família dos inibidores de serino-proteases. Na maioria dos estudos, o SCCA total é mensurado para determinar a conduta clínica, entretanto sua utilização ainda se encontra repleta de controvérsias. Níveis séricos de SCCA foram correlacionados com o estágio e tamanho tumoral, o tumor residual após tratamento, doença recorrente ou em progressão e sobrevida em pacientes com carcinomas epidermóides. Vale a pena ressaltar que este marcador não é suficientemente sensível para detectar 100% das lesões precursoras e avançadas do colo uterino. Aproximadamente 60% das mulheres com lesões precursoras do colo uterino apresentam níveis significativos deste marcador. Além disso, níveis elevados desta proteína são detectados em outros tipos tumorais, como por exemplo, carcinomas epidermóides de cabeça e pescoço, esôfago e pulmão<sup>62,63</sup>. Além deste marcador, o antígeno carcinoembrionário (CEA) e o CA125 têm sido utilizados com cautela em pacientes com adenocarcinomas do colo uterino, mas até o presente momento não existem condutas estabelecidas utilizando estes marcadores. Vale a pena ressaltar que apesar dos inúmeros esforços na procura de marcadores circulantes, nenhum deles mostrou utilidade clínica comparável ou superior às análises realizadas diretamente nos esfregaços derivados do colo uterino.

## CONCLUSÃO

Atualmente, além do teste de Papanicolaou, diversos biomarcadores associados ao câncer cervical estão sendo analisados. Os dados mais contundentes são associados à detecção persistente do genoma de HPV de alto risco. Além disso, tanto o estudo da expressão de p16<sup>INK4a</sup> através de imunoistoquímica, como a avaliação dos transcritos de E6/E7 dos HPV do tipo 16, 18, 31, 33 e 45 em amostras do colo uterino, têm-se tornado bastante populares entre os citopatologistas e os colposcopistas. Outros biomarcadores possuem um elevado potencial, mas como ainda não foram avaliados em grandes ensaios clínicos, perdem sua possível utilização na prática clínica. Considerando a rápida evolução e o aprimoramento de técnicas e estudos que permitem analisar modificações e alterações celulares em larga escala, acredita-se que a análise simultânea utilizando diversos biomarcadores possa contribuir para a determinação de sua eficiência em um futuro próximo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Srinivas PR, Kramer BS, Srivastava S. Trends in biomarker research for cancer detection. *Lancet Oncol* 2001; 2(11): 698-704.
2. Zur-Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(5): 342-350.
3. INCA – Instituto Nacional de Câncer. <http://www.inca.gov.br>. Acessado em: 15/03/09.
4. Bosch FX, Burchell AN, Schiffman M, Giuliano AR, de Sanjose S, Bruni L, et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine* 2008; 26(10): 1-16.
5. IARC - International Agency for Research on Cancer-World Health Organization. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: human papillomaviruses. Lyon: Human papillomavirus 2007. Vol. 90. Available from: URL:<http://www-dep.iarc.fr/>. Acessado em: 15/03/09.
6. Harper DM, Franco EL, Wheeler C, Ferris DG, Jenkins D, Schuid A et al. GlaxoSmithKline HPV Vaccine Study Group. Efficacy of a bivalent L1

- virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 364(9447): 1757-65.
7. Harper DM, Franco EL, Wheeler CM, Moscicki AB, Romanowski B, Roteli-Martins CM et al. HPV Vaccine Study group. Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. *Lancet* 2006; 367(9518): 1247-55.
  8. Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Ault KA, Giuliano AR et al. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol* 2005; 6(5): 271-8.
  9. Garland SM, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, Perez G, Harper DM, Leodolter S et al. Females United to Unilaterally Reduce Endo/Ectocervical Disease (FUTURE) I Investigators. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital diseases. *N Engl J Med* 2007; 356(19): 1928-43.
  10. Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Paavonen J, Iversen OE et al. High sustained efficacy of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus types 6/11/16/18 L1 virus-like particle vaccine through 5 years of follow-up. *Br J Cancer* 2006; 95:1459-1466.
  11. Schwarz TF, Leo O. Immune response to human papillomavirus after prophylactic vaccination with AS04-adjuvanted HPV-16/18 vaccine: improving upon nature. *Gynecol Oncol* 2008; 110(1): 1-10.
  12. Lepique AP, Rabachini T, Villa LL. HPV vaccination: the beginning of the end of cervical cancer? - A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009; 104(1): 1-10.
  13. Spitzer M, Apgar BS, Brotzman GL. Management of histologic abnormalities of the cervix. *Am Fam Physician* 2006; 73(1): 105-12.
  14. Wright TC Jr, Cox JT, Massad LS, Carlson J, Twigg LB, Wilkinson EJ; American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. 2001 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189(1):295-304.
  15. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002; 287(16):2114-9.
  16. Wright TC Jr, Schiffman M, Solomon D, Cox JT, Garcia F, Goldie S et al. Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstet Gynecol* 2004; 103(2): 304-9.
  17. Kitchener HC, Castle PE, Cox JT. Chapter 7: Achievements and limitations of cervical cytology screening. *Vaccine* 2006; 3: 63-70.
  18. Koss LG. Testing in cervicovaginal cytology. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130(1): 13.
  19. von Knebel Doeberitz M. New markers for cervical dysplasia to visualise the genomic chaos created by aberrant oncogenic papillomavirus infections. *Eur J Cancer* 2002; 38(17): 2229-42.
  20. Sasieni PD, Cuzick J, Lynch-Farmery E. Estimating the efficacy of screening by auditing smear histories of women with and without cervical cancer. The National Co-ordinating Network for Cervical Screening Working Group. *Br J Cancer* 1996; 73(8): 1001-5.
  21. Duarte-Franco E, Franco EL. Cancer of the Uterine Cervix. *BMC Womens Health* 2004; 4:S13.
  22. von Knebel-Doeberitz M, Syrjänen KJ. Molecular markers: how to apply in practice. *Gynecol Oncol* 2006; 103(1): 18-20.
  23. Arbyn M, Sasieni P, Meijer CJ, Clavel C, Koliopoulos G, Dillner J. Chapter 9: Clinical applications of HPV testing: a summary of meta-analyses. *Vaccine* 2006; 3: 78-89.
  24. Castellsagué X, Sanjosé S, Aguado T, Louie KS, Bruni L, et al. HPV and Cervical Cancer in the World 2007 Report. *Vaccine* 2007; 25:3.
  25. Solomon D, Schiffman M, Tarone R; ALTS Study group. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93(4): 293-9.
  26. Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers* 2007; 23(4): 315-30.
  27. Duensing S, Munger K. Centrosome abnormalities, genomic instability and carcinogenic progression. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1471(2): M81-8.
  28. Duenas-Gonzalez A, Lizano M, Candelaria M, Cetina L, Arce C, Cervera E. Epigenetics of do colo uterino cancer. An overview and therapeutic perspectives. *Mol Cancer* 2005; 4:38.
  29. Khleif SN, DeGregori J, Yee CL, Otterson GA, Kaye FJ, Nevins JR et al. Inhibition of cyclin D-CDK4/CDK6 activity is associated with an E2F-mediated induction of cyclin kinase inhibitor activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(9): 4350-4.
  30. Wentzensen N, Bergeron C, Cas F, Eschenbach D, Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M. Evaluation of a nuclear score for p16INK4a-stained cervical squamous cells in liquid-based cytology samples. *Cancer* 2005; 105(6): 461-7.
  31. Wang SS, Trunk M, Schiffman M, Herrero R, Sherman ME, Burk RD et al. Validation of p16INK4a as a marker of oncogenic human papillomavirus infection in cervical biopsies from a population-based cohort in Costa Rica. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13(8): 1355-60.
  32. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, Ridder R, Rudy W, Petry U et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer* 2001; 92(2): 276-84.
  33. Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, Fukuda T, Nakajima T. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. *Am J Pathol* 1998; 153(6): 1741-8.
  34. Bahnassy AA, Zekri AR, Saleh M, Lotayef M, Moneir M, Shawki O. The possible role of cell cycle regulators in multistep process of HPV-associated cervical carcinoma carcinoma. *BMC Clin Pathol* 2007; 24:7-4.
  35. Duensing S, Duensing A, Flores ER, Do A, Lambert PF, Munger K. Centrosome abnormalities and genomic instability by episomal expression of human papillomavirus type 16 in raft cultures of human keratinocytes. *J Virol* 2001; 75(16): 7712-6.
  36. Duensing S, Munger K. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins independently induce numerical and structural chromosome instability. *Cancer Res* 2002; 62(23): 7075-82.
  37. Wentzensen N, Ridder R, Klaes R, Vinokurova S, Schaefer U, Doeberitz MK. Characterization of viral-cellular fusion transcripts in a large series of HPV16 and 18 positive anogenital lesions. *Oncogene* 2002; 21(3): 419-26.
  38. Peitsaro P, Johansson B, Syrjänen S. Integrated human papillomavirus type 16 is frequently found in cervical cancer precursors as demonstrated by a novel quantitative real-time PCR technique. *J Clin Microbiol* 2002; 40(3): 886-91.
  39. Vinokurova S, Wentzensen N, Eienkel J, Klaes R, Ziegert C, Melsheimer P et al. Clonal history of papillomavirus-induced dysplasia in the female lower genital tract. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(24): 1816-21.
  40. Storey A, Thomas M, Kalita A, Harwood C, Gardiol D, Mantovani F et al. Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. *Nature* 1998; 21(6682): 229-34.
  41. Koushik A, Platt RW, Franco EL. p53 codon 72 polymorphism and cervical neoplasia: a meta-analysis review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13(1): 11-22.
  42. Brenna SM, Silva ID, Zeferino LC, Pereira JS, Martinez EZ, Syrjänen KJ. Prognostic value of P53 codon 72 polymorphism in invasive do colo uterino cancer in Brazil. *Gynecol Oncol* 2004; 93(2): 374-80.
  43. Maki H, Franco EL, Kaiano J, Villa LL, Labrecque S, Dudley R et al. p53 polymorphism in codon 72 and risk of human papillomavirus-induced cervical cancer: effect of inter-laboratory variation. *Int J Cancer* 2000; 87(4): 528-33.
  44. Hildesheim A, Schiffman M, Brinton LA, Fraumeni JF Jr, Herrero R, Bratti MC et al. p53 polymorphism and risk of cervical cancer. *Nature* 1998; 10(6711): 531-2.
  45. Feng Q, Hawes SE, Stern JE, Dem A, Sow PS, Dembele B et al. Promoter hypermethylation of tumor suppressor genes in urine from patients with cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16(6): 1178-84.
  46. Yang HJ, Liu VW, Wang Y, Tsang PC, Ngan HY. Differential DNA methylation profiles in gynecological cancers and correlation with clinico-pathological data. *BMC Cancer* 2006; 6: 212.
  47. Nees M, van Wijngaarden E, Bakos E, Schneider A, Durst M. Identification of novel molecular markers which correlate with HPV-induced tumor progression. *Oncogene* 1998; 16(19): 2447-58.
  48. Wollscheid V, Kuhne-Heid R, Stein I, Jansen L, Köllner S, Schneider A et al. Identification of a new proliferation-associated protein NET-1/C4.8 characteristic for a subset of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinomas. *Int J Cancer* 2002; 99(6): 771-5.
  49. Wong YF, Selvanayagam ZE, Wei N, Porter J, Vittal R, Hu R et al. Expression genomics of cervical cancer: molecular classification and prediction of radiotherapy response by DNA microarray. *Clin Cancer Res* 2003; 9(15): 5486-92.
  50. Santin AD, Zhan F, Bignotti E, Siegel ER, Cané S, Bellone S et al. Gene expression profiles of primary HPV16- and HPV18-infected early stage cervical cancers and normal cervical epithelium: identification of novel candidate molecular markers for cervical cancer diagnosis and therapy. *Virology* 2005; 331(2): 269-91.
  51. Termini L, Boccardo E, Esteves GH, Hirata R Jr, Martins WK, Colo AE et al. Characterization of global transcription profile of normal and HPV-immortalized keratinocytes and their response to TNF treatment. *BMC Med Genomics* 2008; 1:29.

52. Wong YF, Cheung TH, Lo KW, Wang VW, Chan CS, Ng TB et al. Protein profiling of cervical cancer by protein-biochips: proteomic scoring to discriminate cervical cancer from normal cervix. *Cancer Lett* 2004; 211(2): 227-34.
53. Lin YW, Lai HC, Lin CY, Chiou JY, Shui HA, Chang CC et al. Plasma proteomic profiling for detecting and differentiating in situ and invasive carcinomas of the uterine cervix. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16(3): 1216-24.
54. Mathur SP, Mathur RS, Gray EA, Lane D, Underwood PG, Kohler M et al. Serum vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) as a specific biomarker for advanced cervical cancer: Relationship to insulin-like growth factor II (IGF-II), IGF binding protein 3 (IGF-BP3) and VEGF-A. *Gynecol Oncol* 2005; 98(3): 467-83.
55. Mitsuhashi A, Suzuka K, Yamazawa K, Matsui H, Seki K, Sekiya S. Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C levels as tumor markers in patients with cervical carcinoma. *Cancer* 2005; 103(4): 724-30.
56. Molina R, Filella X, Augé JM, Bosch E, Torne A, Pahisa J et al. CYFRA 21.1 in patients with cervical cancer: comparison with SCC and CEA. *Anticancer Res* 2005; 25(3A): 1765-71.
57. Widschwendter A, Ivarsson L, Blassnig A, Muller HM, Fiegl H, Wiedemair A et al. CDH1 and CDH13 methylation in serum is an independent prognostic marker in cervical cancer patients. *Int J Cancer* 2004; 109(2): 163-6.
58. Silins I, Avall-Lundqvist E, Tadesse A, Jansen KU, Stendahl U, Lenner P et al. Evaluation of antibodies to human papillomavirus as prognostic markers in cervical cancer patients. *Gynecol Oncol* 2002; 85(2): 333-8.
59. Waterboer T, Sehr P, Michael KM, Franceschi S, Nieland JD, Joos TO et al. Multiplex human papillomavirus serology based on in situ-purified glutathione s-transferase fusion proteins. *Clin Chem* 2005; 51(10): 1845-53.
60. Gaarenstroom KN., Bonfrer JMG. National Academy of Clinical Biochemistry - Guidelines for the Use of Tumor Markers in Cervical Cancer. (Section 3J). 2006, 1-16. <http://www.aacc.org/>. Acessado em: 15/03/09.
61. Diamandis EP, Hoffman BR, Sturgeon CM. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines for the Use of Tumor Markers. *Clin Chem*. 2008; 54(11): 1935-9.
62. Esajas MD, Duk JM, de Bruijn HW, Aalders JG, Willemse PH, Sluiter W et al. Clinical value of routine serum squamous cell carcinoma antigen in follow-up of patients with early-stage cervical cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19(19): 3960-6.
63. Hsu KF, Huang SC, Shiauz AI, Chengy YM, Shenk MR, Chenk VF et al. Increased expression level of squamous cell carcinoma antigen 2 and 1 ratio is associated with poor prognosis in early-stage uterine cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2007; 17: 174-181.

**Endereço para correspondência:****LUISALINA VILLA**

Ludwig Institute for Cancer Research - São Paulo Branch - Hospital Alemão Oswaldo Cruz;

Rua João Julião, 245 - 1º andar, São Paulo, SP, Brasil.

CEP: 01323-930.

Telefone: 55(11) 3549-0461

E-mail: llvilla@ludwig.org.br

Recebido em: 28/01/09

Aprovado em: 22/02/09

# PREVENÇÃO DA INFECÇÃO POR HPV E LESÕES ASSOCIADAS COM O USO DE VACINAS

## HPV INFECTION AND LESION PREVENTION USING HPV VACCINE

*Paulo C Giraldo<sup>1</sup>, Maria José PMA Silva<sup>2</sup>, Edison N Fedrizzi<sup>3</sup>, Ana Katherine S Gonçalves<sup>4</sup>, Rose Luce G Amaral<sup>5</sup>, José Eleutério Junior<sup>6</sup>, Iaponira V Figueiredo<sup>7</sup>*

### RESUMO

O descobrimento de uma vacina capaz de alterar o curso natural do câncer de colo uterino e outras neoplasias decorrentes da infecção pelo HPV criou grandes perspectivas não só na comunidade médica, mas também entre diferentes segmentos da população mundial, tendo sido incluída no calendário vacinal de vários países. Os autores revisam o tema que sugere que a vacina profilática contra o HPV, apesar de isoladamente não ser capaz de eliminar totalmente o câncer de colo uterino, poderá trazer uma importante contribuição para a saúde pública, quando associada aos programas de rastreamento do câncer cervical. Mesmo sabendo da alta eficácia das vacinas profiláticas contra tipos específicos do vírus, serão necessários novos estudos com maior tempo de duração para avaliar os resultados em longo prazo, uma vez que os estudos mais prolongados atingiram apenas nove anos e meio de seguimento. Até o momento, os resultados encontrados sugerem não haver a necessidade de reforço da vacina, mas serão necessárias as avaliações com mais de 10 anos para verificar a duração da eficácia, segurança e o tempo de validade da vacina profilática contra o HPV.

**Palavras-chave:** HPV, câncer, verrugas genitais, vacina, DST

### ABSTRACT

The discovery of a vaccine capable of altering the natural course of cervical and other cancers resulting from HPV infection, not only has great perspectives in the medical community but also among the different segments of the population. Due to this, is now participates in the immunization schedules of various countries. The aim of this paper is to review the fact that the prophylactic vaccine against HPV, which although alone is not able to completely eliminate cervical cancer, can, in fact bring an important contribution to public health, when associated to screening programs for cervical cancer. Even knowing the high efficacy of prophylactic vaccines against specific types of HPV, further studies, to assess the results in the long term, will be required, since the longest term studies up to press have only reached an 9.5 year follow up period. So far, the results suggest no need for a vaccine booster, however a greater than ten year follow up period will be necessary to evaluate efficacy, safety time lapse and time of validity of the prophylactic vaccine against HPV.

**Keywords:** HPV, cancer, genital warts, vaccine, STD

## EPIDEMIOLOGIA

O câncer cervical corresponde a aproximadamente 10% de todos os casos de câncer em mulheres no mundo e é a segunda causa mais comum de morte por neoplasia, depois do câncer de mama<sup>1</sup>. Atualmente é um importante problema de saúde pública, em especial nos países menos desenvolvidos, nos quais ocorrem 80% dos casos<sup>2</sup>.

A cada ano ocorrem cerca de 500 mil casos de câncer de colo uterino no mundo, resultando em 270 mil mortes. Ou seja, a cada 2 minutos morre uma mulher de câncer cervical no mundo<sup>3</sup>. Estimativas indicam que, se forem mantidas as tendências atuais, a perspectiva é que em 2050 sejam 1 milhão de casos novos por ano<sup>3</sup>. No Brasil ocorrem cerca de 20.000 casos e 4.000 mortes por ano, com um risco estimado médio de 19:100.000 mulheres<sup>4</sup>.

Outros grandes problemas de saúde pública mundial associados às infecções pelo HPV são as verrugas genitais e as lesões pré-cancerosas do trato anogenital masculino e feminino. Segun-

do dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 630 milhões de homens e mulheres (1:10 pessoas) estão infectados por este vírus no mundo<sup>3</sup>. No Brasil, estima-se que haja 9 a 10 milhões de infectados pelo HPV e que, a cada ano, 700 mil casos novos surjam, podendo ser considerada, portanto, uma epidemia.

Mundialmente, estimam-se 32 milhões de casos novos de verrugas genitais a cada ano (Brasil, em torno de 1,9 milhão/ano), sendo a grande maioria associada aos HPV 6 (70% dos casos) e 11 (20% dos casos)<sup>5</sup>.

O risco de aquisição da infecção HPV durante a vida para homens e mulheres sexualmente ativos é de no mínimo 50%. Aos 50 anos, ao menos 80% das mulheres terão adquirido a infecção genital pelo HPV<sup>6</sup>.

## HISTÓRIA NATURAL

Hoje, a infecção genital pelo HPV é considerada a doença sexualmente transmissível mais frequente em todo o mundo<sup>7</sup>, com uma prevalência estimada de 20-40% em mulheres sexualmente ativas aos 20 anos de idade, apresentando um declínio com a maturidade<sup>8,9</sup>. Em contrapartida, o câncer cervical é incomum nas mulheres com menos de 25 anos e sua incidência aumenta progressivamente, sendo maior nas mulheres acima dos 40 anos<sup>2</sup>, em função do intervalo grande entre a contaminação e a transformação maligna, em média superior a 10 anos<sup>1</sup>.

O HPV pertence a uma família grande de vírus (Papilomaviridae), sendo identificados mais de 200 tipos diferentes, divididos principalmente em dois grandes grupos, o de baixo e o de alto

<sup>1</sup> Professor associado livre-docente da Universidade Estadual de Campinas.

<sup>2</sup> Professora assistente mestre da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

<sup>3</sup> Professor de Ginecologia e Obstetrícia da UFSC.

<sup>4</sup> Professora-adjunta doutora da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

<sup>5</sup> Pós-graduanda (Doutorado) da Universidade Estadual de Campinas.

<sup>6</sup> Professor-adjunto doutor da Universidade Federal do Ceará.

<sup>7</sup> Pós-graduanda (mestrado) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.



risco oncogênico<sup>10,11</sup>. Cerca de 45 tipos diferentes infectam a área anogenital, entretanto, os HPV 6, 11, 16 e 18 são os responsáveis pela maioria das lesões HPV induzidas nesta região<sup>10,11</sup>. Os HPV de baixo risco mais frequentes são 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 e 81, e os de alto risco, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 66, 73 e 82<sup>11</sup>.

A presença de microtraumatismos no epitélio facilita o acesso direto das partículas virais até as camadas mais profundas, infectando as células basais do epitélio genital. O período de latência entre a infecção e o desenvolvimento de uma lesão (benigna ou maligna) é extremamamente variável, sugerindo que outros fatores, como comportamento sexual, status imunológico, predisposição genética, nutrição, tabagismo, nível socioeconômico, virulência viral e a concomitância com outras infecções sexualmente transmissíveis (*Chlamydia trachomatis*, herpesvírus, por exemplo) possam estar atuando como cofatores<sup>12-17</sup>.

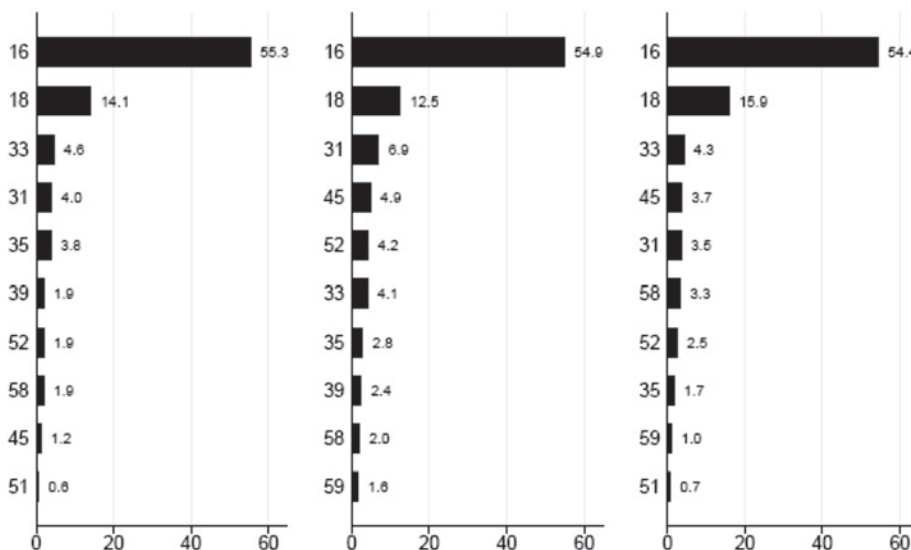
Na maioria das vezes, o vírus é eliminado em um período de aproximadamente 2 anos, sem deixar sequelas e muitas vezes sem manifestar qualquer sintoma. A duração da infecção é mais longa para o HPV de alto risco oncogênico que para os de baixo risco<sup>18</sup>. A persistência da infecção viral associa-se ao aumento do risco de aparecimento de lesões<sup>15</sup>. Cerca de 1% da população infectada irá manifestar alguma lesão verrucosa e 4% terão alterações diagnosticadas à citologia<sup>16</sup>.

A infecção pelo HPV está associada principalmente ao desenvolvimento de lesões benignas e malignas da área anogenital masculina e feminina. Entretanto, esta infecção pode ter uma localização extragenital como olhos, laringe e trato aerodigestivo<sup>19,20</sup>. A maioria das doenças HPV relacionadas é atribuída aos HPV tipos 6, 11, 16 e 18. Os do tipo 6 e 11 são responsáveis por mais de 90% dos casos de verrugas anogenitais em ambos os sexos e 25% das lesões intraepiteliais cervicais de baixo grau. Os HPV tipos 16 e 18 estão associados a aproximadamente 25% dos casos de lesão intraepitelial escamosa de baixo grau, 50% das de alto grau, 70% dos casos de carcinoma epidermoide e 90% dos adenocarcinomas

de colo uterino e, ainda, 70% dos outros carcinomas genitais na mulher e 90% dos casos de carcinoma anal<sup>11,21</sup>. Os tipos de HPV associados principalmente ao câncer de colo uterino apresentam uma pequena variação, de acordo com a região no mundo estudada. No entanto, os HPV 16 e 18 são os mais frequentes no mundo inteiro, sendo no Brasil, responsáveis por 55,3% e 14,1% dos casos de câncer cervical, respectivamente (**Figura 1**).

A prevalência do HPV nos carcinomas anogenitais foi recentemente avaliada por Carter e cols.<sup>21</sup>, e pode ser vista na **Tabela 1**. Os homens, além de serem os transmissores mais frequentes da infecção para a mulher, são atingidos por cerca de 10.000 casos de carcinoma associados ao HPV (pênis, ânus, laringe, orofaringe e cavidade oral). Nos últimos anos tem-se observado um aumento importante dos casos de câncer anal, principalmente em homens que mantêm relações sexuais com homens. Um grupo considerado de altíssimo risco para esta doença é o dos HIV infectados. A taxa anual de carcinoma anal é de 35/100.000 homens HIV-negativo e 200/100.000 para o grupo HIV-positivo<sup>22-24</sup>. Quando analisamos algumas regiões específicas do Brasil (Nordeste, por exemplo), a incidência de câncer anal e peniano é a maior do mundo. A vacinação de ambos, homens e mulheres, com uma vacina que contenha estes quatro tipos virais mais importantes, resultará em uma substancial redução da aquisição desta infecção e, conseqüentemente, uma queda brutal na doença HPV induzida e sua repercussão econômica.

O DNA viral apresenta-se livre no núcleo da célula hospedeira (forma epissomal) nas lesões benignas, e integrado ao genoma (forma integrada) nas lesões pré-malignas e malignas. Este segundo mecanismo é o responsável pela inibição das proteínas celulares p53 e pRb, e pelos genes E6 e E7, respectivamente, induzindo ao processo de imortalização celular e oncogênese<sup>25,26</sup>. O HPV 18 parece ser mais agressivo e estar associado a evolução mais rápida dos carcinomas. Comparado com os tumores contendo HPV 16, a média das idades de mulheres com carcinoma associado ao HPV 18 é 8 a 12 anos mais jovens, e as taxas de recorrência são maiores



**Figura 1:** Os dez mais frequentes tipos de HPV (%) em mulheres com câncer cervical no Brasil, em comparação com a América do Sul e o mundo.

Tabela 1: Prevalência do DNA HPV nos carcinomas anogenitais (%)

Câncer	(n)	HPV (+)	HPV 16	HPV 18	HPV 30s <sup>a</sup>	Múltiplos <sup>b</sup>	Outros <sup>c</sup>
CCEC <sup>d</sup>	149	89,3	<b>64,4</b>	18,1	6,7	8,0	8,0
ACC <sup>e</sup>	132	81,8	40,9	<b>44,7</b>	1,5	12,1	8,3
Vulva	219	89,0	<b>71,2</b>	5,9	9,6	5,0	7,3
	Is <sup>f</sup>	181	91,2	74,6	6,6	8,8	6,1 7,2
	Inv <sup>g</sup>	38	79,0	55,3	2,6	13,2	0,0 7,9
Vagina	54	90,7	<b>63,0</b>	5,6	3,7	9,3	27,8
Anal	64	93,8	79,7	9,4	6,2	10,9	10,8
	♀	45	95,6	<b>82,2</b>	11,1	6,7	11,1 8,9
	♂	38	94,7	76,3	5,3	7,9	7,9 13,2
Pênis	33	81,8	69,7	3,0	6,0	9,1	12,1

Referência 21

<sup>a</sup> Inclui HPV 31, 33, 35 e 39<sup>b</sup> Contém mais de um tipo de HPV<sup>c</sup> Inclui HPV 6, 45, 52, 54, 58, 66, 72, 73 e HPV desconhecido<sup>d</sup> CCEC: carcinoma de colo espinocelular<sup>e</sup> ACC: adenocarcinoma de colo (*in situ* e invasivo)<sup>f</sup> Is: *in situ*<sup>g</sup> Inv: invasor

Tabela 2: Odds Ratios (OR) ajustadas para a detecção de DNA HPV e câncer de colo uterino, segundo Muñoz e cols. e Clifford et al.

Tipo HPV	Muñoz et al. (11) OR	Clifford et al. (22) 95% IC	OR	95% IC
Qualquer	172,6	122,2-243,7	-	-
HVP 6	4,3		3,6	(0,4-31,9)
HVP 11	11,2		7,5	(0,7-76,2)
HVP 16	434,5		281,9	(196,3-404,8)
HVP 18	248,1		222,5	(130,8-378,4)
HVP 16	+		18	327,2 146,2 (61,9-345,1)
HVP 31	123,6		124,9	(55,3-281,6)
HVP 33	373,5		573,4	(74,6-4.402,9)
HVP 35	73,8		62,0	(22,5-171)
HVP 45	197,6		157,9	(79-315,5)
HVP 51	66,5		88,3	(28,3-275,5)
HVP 52	200,0		190,6	(65,4-555,3)
HVP 56	45,1		70,3	(25,8-191,8)
HVP 58	114,8		91,3	(38,2-218,1)
HVP 59	419,2		205,8	(46,1-917,7)
HVP 68	53,7		44,4	(3,7-523,1)
HVP 73	106,4		164,5	(19,6-1.375,5)
HVP 16	+		AR	617,4 126,0 (46,1-344)
HVP 16	+		BR	130,8 38,8 (8,0-169,5)
HVP 18	+		AR	187,0 258,3 (75,9-879,3)
2 Tipos	HVP 52,3		-	-
3 Tipos	HVP 65,4		62,7	(23-171,1)
4 ou 5 HVP	-		48,8	(8,3-287,8)

AR: outro tipo de HVP de alto risco; BR: outro tipo de HVP de baixo risco.

(45% versus 16%) (27). Muñoz e cols. (11) referem riscos diferentes para o carcinoma cervical aos diferentes tipos virais, sendo o HPV 16 o de maior risco com uma OR = 435, seguido pelo HPV 59 (OR = 419), menos frequente em nosso meio (Tabela 2). Os resultados encontrados por Clifford e cols.<sup>22</sup> são bastante semelhantes e podem ser vistos também na Tabela 2.

## PREVENÇÃO

Desde a década de 1940, a colpocitologia oncótica ou exame de Papanicolaou constitui o método de triagem e prevenção para as lesões precursoras do câncer do colo uterino. Introduzido pelo médico grego-americano George Papanicolaou (1883-1962), este

exame sofreu modificações na sua realização (convencional, citologia líquida, automatizada) e classificação, mas a sua essência continua a mesma<sup>28</sup>. É um teste efetivo, de baixo custo e considerado a melhor estratégia de saúde pública para a prevenção do câncer cervical<sup>29,30</sup>, capaz de reduzir em cerca de 80% sua incidência com um programa organizado de rastreamento<sup>31</sup>. Entretanto, a taxa média de falso-negativo e falso-positivo é de 20% e 10%-30%, respectivamente, mesmo em laboratórios que apresentam bom controle de qualidade<sup>31</sup>. A associação com testes de DNA do HPV oncogênico pode reduzir consideravelmente estes números, se utilizada de forma adequada<sup>32,33</sup>. Num futuro próximo, outros marcadores poderão ser incorporados aos métodos de rastreamento, como a expressão da proteína p16 ou RNAm de HPV de alto risco (principalmente HPV 16 e 18).

A infecção por HPV é uma doença sexualmente transmissível, cuja contaminação se faz por meio de contato direto com a mucosa ou pele. O grau de contágio é relativamente alto, chegando a 65% logo após o contato com o indivíduo infectado. Apesar de a grande maioria destas infecções ser de transmissão sexual (95%), cerca de 5% poderão ocorrer através do contato com mãos, toalhas, roupas ou objetos, desde que haja secreção com vírus vivo e o contato com uma pele ou mucosa não íntegra<sup>34</sup>. O uso do preservativo, essencial na prevenção de todas as DST, infelizmente não fornece proteção total contra o HPV. Todavia, é bem alta e está em torno de 60%<sup>35</sup>. O DNA HPV tem sido identificado em aproximadamente 20% das mulheres que nunca tiveram coito vaginal, sugerindo que a abstinência da penetração vaginal não é um fator que confere total prevenção da infecção<sup>34</sup>.

A transmissão vertical, da mãe para o recém-nascido, é frequente, mas a repercussão desta infecção é rara na criança. O problema mais sério associado a este tipo de contaminação é a papilomatose laríngea recorrente em crianças ou adolescentes, com consequências respiratórias graves, necessitando de inúmeros tratamentos cirúrgicos<sup>7,36</sup>. O parto por via alta não é uma forma adequada de prevenção da infecção infantil, uma vez que sua morbimortalidade é superior à da infecção por HPV. Logo, a indicação de cesárea nos casos de mães infectadas pelo HPV é puramente obstétrica.

## VACINAS ANTI-HPV

Atualmente, existem dois principais grupos de vacinas contra o papilomavírus em desenvolvimento: as vacinas profiláticas e as vacinas terapêuticas<sup>21,37</sup>. A vacina profilática baseia-se na estimulação da resposta imunológica humoral. Os antígenos utilizados para estímulo da produção de anticorpos são as proteínas L1 do capsídeo viral produzidas por tecnologia recombinante de engenharia genética, chamadas de VLP (*virus like particles* ou “partículas semelhantes a vírus”) que são morfológicamente idênticas aos vírions de HPV. Por não conter material genético viral, não há risco de infecção com as VLP<sup>38</sup>.

Já a vacina terapêutica estimula o desenvolvimento da resposta imune celular, ao sensibilizar células imunocompetentes para atuar no combate à infecção viral. São produzidas a partir de peptídeos, proteínas recombinantes, DNA de plasmídeos ou células dendríticas<sup>39,40</sup>. Os ensaios clínicos das vacinas terapêuticas encontram-se em fases 1 e 2 de investigação, sendo os resultados de sua eficácia ainda não muito animadores para uso como terapêutica primária e

com dados que diferem bastante em função das características da população estudada<sup>40,41</sup>.

Vários estudos randomizados e placebo-controlados têm sido realizados para determinar a segurança e imunogenicidade das VLP isoladas (vacinas monovalentes tipos 11, 16 e 18) ou associadas (vacina bivalente ou quadrivalente) em seres humanos<sup>37</sup>. Cada estudo tem medido os anticorpos anti-HPV antes, durante e após as vacinações. Em todos os casos, as VLP têm induzido altos níveis de anticorpos, com concentrações muito maiores que as encontradas em indivíduos infectados naturalmente pelo HPV<sup>42-48</sup>.

Em 2006, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (ANVISA) regulamentou a comercialização da Vacina Quadrivalente Recombinante contra o Papilomavírus Humano (6, 11, 16 e 18)<sup>TM</sup> da Merck Sharp & Dohme (MSD). Mais recentemente também foi aprovada a Vacina Bivalente ou contra HPV Oncogênio (16 e 18)<sup>TM</sup> da Glaxo Smith Kline (GSK). Ambas são semelhantes e apresentam alta eficácia contra os HPV existentes na vacina (**Quadro 1**). Estas vacinas têm-se mostrado altamente promissoras e apresentaram excelentes resultados após mais de 5 anos de acompanhamento, em pesquisas controladas, com cerca de 35 mil mulheres dos principais continentes<sup>37-39,43,44,46-56</sup>.

Muitos estudos apontam com entusiasmo o papel das vacinas profiláticas na redução do câncer de colo uterino, sugerindo a incorporação desta nova tecnologia ao serviço público de saúde<sup>44,57-59</sup>. Tal afirmação justifica-se não só em decorrência da sua importância complementar na prevenção do câncer de colo uterino, mas também pelo seu potencial uso na prevenção de outras doenças e cânceres associados ao HPV<sup>60</sup>.

## VACINA MONOVALENTE ANTI-HPV

Vários ensaios clínicos têm testado as vacinas anti-HPV monovalentes para os tipos 11, 16 e 18. A vacina anti-HPV 16 continua sendo avaliada até o presente, com 9 anos e meio de acompanhamento, mantendo a mesma eficácia de 100% de proteção<sup>43,61</sup>.

Os eventos adversos mais observados nestes estudos foram a dor e a reação no local da injeção. A dor foi frequentemente associada a ambas imunizações, placebo ou VLP, entretanto, tais reações foram mais comuns no grupo vacinado e com maiores doses da VLP. Os eventos adversos sérios foram extremamente raros e não relacionados à vacina<sup>45</sup>.

Uma vez que vários tipos de HPV causam doenças em nosso organismo e a resposta imune com as vacinas é principalmente tipo-específica, a vacinação pode trazer um benefício muito maior com a combinação das VLP, ou seja, as vacinas multivalentes<sup>46,62</sup>.

## VACINA BIVALENTE ANTI-HPV (16 e 18)

A vacina bivalente anti-HPV (16 e 18) também é produzida através de tecnologia recombinante para obtenção das VLP 16 e 18, e utiliza o sistema de expressão com baculovírus em células de insetos *Trichoplusia ni*. O adjuvante utilizado nesta vacina é o ASO4 com 500 µg de hidróxido de alumínio e 50 µg de monofosforil lipídio-A 3-desacilado<sup>47-50</sup>.

Estudos randomizados e duplo-cegos de fase 2 da vacina bivalente anti-HPV (16 e 18) foram conduzidos na América do Norte e no Brasil<sup>47</sup>. Em um estudo de extensão de 4 anos e meio, mais de 98% de soropositividade foram mantidos para os HPV 16 e 18.

**Quadro 1:** Características das vacinas anti-HPV

CARACTERÍSTICA	QUADRIVALENTE	BIVALENTE																
<b>Composição</b>																		
➤ Tipo	VLP L1 HPV 6,11,16,18	VLP L1 HPV 16,18																
➤ Concentração	20 µg HPV 6 e 18 / 40 µg HPV 11 e 16	20 µg HPV 16 e 18																
➤ Adjuvante	225 µg sulfato de hidroxifosfato amorfo de alumínio (AAHS)	500 µg hidróxido de alumínio + 50 µg de monofosforil lipídio-a (ASO4)																
➤ Tecnologia recombinante	Expressão em levedura ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	Expressão com baculovírus em células de inseto ( <i>Trichoplusia ni</i> )																
<b>Nome comercial</b>	Vacina Quadrivalente Recombinante contra Papilomavírus Humano® (Brasil)	Vacina contra HPV oncogênico (16 e 18 Recombinante com ASO4)® (Brasil)																
<b>Posologia</b>	0,5 mL IM 0, 2 e 6 meses	0,5 mL IM 0, 1 e 6 meses																
<b>Indicação (Brasil)</b>	Mulheres de 9 a 26 anos	Mulheres de 10 anos a 25 anos																
<b>Eficácia (mulheres de 16 a 26 anos <i>näive</i>)</b>																		
➤ Verruga genital / = NIV / = NIVA	<table border="0"> <tr> <td><b>PROTOCOLO</b></td> <td><b>EFICÁCIA (%)</b></td> </tr> <tr> <td>• 007</td> <td>100,0</td> </tr> <tr> <td>• FUTURE I</td> <td>100,0</td> </tr> <tr> <td>• FUTURE II</td> <td>98,6</td> </tr> <tr> <td>• COMBINADOS</td> <td>99,1</td> </tr> </table>	<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>	• 007	100,0	• FUTURE I	100,0	• FUTURE II	98,6	• COMBINADOS	99,1	Não há dados						
<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>																	
• 007	100,0																	
• FUTURE I	100,0																	
• FUTURE II	98,6																	
• COMBINADOS	99,1																	
➤ NIC 2/3 / AIS	<table border="0"> <tr> <td><b>PROTOCOLO</b></td> <td><b>EFICÁCIA (%)</b></td> </tr> <tr> <td>• 005</td> <td>100,0</td> </tr> <tr> <td>• 007</td> <td>100,0</td> </tr> <tr> <td>• FUTURE I</td> <td>100,0</td> </tr> <tr> <td>• FUTURE II</td> <td>98,0</td> </tr> <tr> <td>• COMBINADOS</td> <td>99,0</td> </tr> </table>	<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>	• 005	100,0	• 007	100,0	• FUTURE I	100,0	• FUTURE II	98,0	• COMBINADOS	99,0	<table border="0"> <tr> <td><b>PROTOCOLO</b></td> <td><b>EFICÁCIA (%)</b></td> </tr> <tr> <td>• PATRICIA</td> <td>100,0</td> </tr> </table>	<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>	• PATRICIA	100,0
<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>																	
• 005	100,0																	
• 007	100,0																	
• FUTURE I	100,0																	
• FUTURE II	98,0																	
• COMBINADOS	99,0																	
<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>																	
• PATRICIA	100,0																	
<b>Eficácia (mulheres de 26 a 45 anos <i>näive</i>)</b>																		
➤ Verruga Genital / = NIV / = NIVA	<table border="0"> <tr> <td><b>PROTOCOLO</b></td> <td><b>EFICÁCIA (%)</b></td> </tr> <tr> <td>• FUTURE III</td> <td>100,0</td> </tr> </table>	<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>	• FUTURE III	100,0	Não há dados												
<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>																	
• FUTURE III	100,0																	
➤ NIC / AIS	<table border="0"> <tr> <td><b>PROTOCOLO</b></td> <td><b>EFICÁCIA (%)</b></td> </tr> <tr> <td>• FUTURE III</td> <td>90,1</td> </tr> </table>	<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>	• FUTURE III	90,1	Não há dados												
<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>																	
• FUTURE III	90,1																	
<b>Eficácia (homens de 16 a 23 anos <i>näive</i>)</b>																		
➤ Verruga genital	<table border="0"> <tr> <td><b>PROTOCOLO</b></td> <td><b>EFICÁCIA (%)</b></td> </tr> <tr> <td>• 020</td> <td>89,4</td> </tr> </table>	<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>	• 020	89,4	Não há dados												
<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>																	
• 020	89,4																	
➤ NIP 1-3	<table border="0"> <tr> <td><b>PROTOCOLO</b></td> <td><b>EFICÁCIA (%)</b></td> </tr> <tr> <td>• 020</td> <td>100,0</td> </tr> </table>	<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>	• 020	100,0	Não há dados												
<b>PROTOCOLO</b>	<b>EFICÁCIA (%)</b>																	
• 020	100,0																	
<b>Imunogenicidade</b>																		
➤ Soroconversão	100% para os quatro tipos de HPV	100% para os dois tipos de HPV																
➤ Resposta anamnésica	Evidente e robusta	Evidente e robusta																
<b>Segurança</b>																		
➤ Geral	Geralmente segura e bem tolerada	Geralmente segura e bem tolerada																
➤ Gravidez	Categoria B / não associada a malformação ou má evolução obstétrica	Não há dados																
➤ Lactação	Segura e bem tolerada	Segura e bem tolerada																
<b>Proteção cruzada</b>																		
➤ HPV 31/45	<b>Eficácia (NIC 2/3 ou AIS)</b> 62% (95% IC 10-85)	<b>Eficácia (infecção persistente)</b> 60% (97,9% IC 28-79)																
➤ HPV 31/33/45/52/58	43% (95% IC 07-66)	41% (97,9% IC 20-56)																
➤ HPV 31/33/35/39/45/51/52/56/58/59	38% (95% IC 06-60)																	

Referências 47-56, 62-64, 67-73.

Foram observadas uma eficácia significativa sobre a prevenção da infecção incidente (96,9%-95%, IC 81,3-99,9) e persistente para 12 meses (100%-95%, IC 33,6-100). Numa análise combinada de eficácia inicial e estendida, a eficácia contra NIC foi de 100% (95% IC 42,4-100). Entretanto, quando se avaliou apenas NIC 2 ou lesão mais grave (NIC 2+), o intervalo de confiança não foi significativo para o HPV 16 (95%, IC -7,7-100) e não pôde ser calculado para o HPV 18, por não ter havido nenhum caso em ambos os grupos. Foi observada ainda uma proteção contra a infecção incidente por HPV 45 (94,2%-95%, IC 63,3-99,9) e HPV 31 (54,5%-95%, IC 11,5-77,7)<sup>50</sup>.

Esta vacina demonstrou ser muito segura, com reações adversas leves e transitórias. O grupo vacinado apresentou mais efeitos no local da vacina que o placebo e os sintomas gerais como astenia, distúrbio gastrointestinal, cefaleia, prurido e *rash* cutâneo foram iguais em ambos, placebo e vacina<sup>47,50</sup>.

O estudo de Fase 3, conhecido como PATRICIA, acompanhou 18.644 mulheres em idade de 15 anos a 25 anos por 15 meses. Foram observados dois casos de NIC 2+ no grupo vacinado (um caso por HPV 16 e um caso por HPV 18) e 21 no grupo-placebo, com uma eficácia de 90,4% (97,9%, IC 53,4-99,3) para HPV 16 e 18. Quando observamos isoladamente, porém, a eficácia para NIC 2+ para o HPV 18 foi de 83,3% (-78,8-99,9)<sup>49</sup>.

Foi ainda demonstrada, como nos estudos Fase 2, uma eficácia para infecção persistente para outros tipos de HPV. A eficácia para infecção persistente de 6 meses foi de 59,9% (97,9%, IC 2,6-85,2) para o HPV 45, 36,1% (97,9%, IC 0,5-59,5) para o HPV 31 e 31,6% (97,9%, IC 3,5-51,9) para o HPV 52. No entanto, esta eficácia não foi significativa para 12 meses de infecção persistente: HPV 45: 62,3% (97,9% IC -93,2-95,4), HPV 31: 10,8% (97,9% IC -115,2-63,6) e HPV 52: 46,5% (97,9% IC -12,3-75,8)<sup>49</sup>.

As reações adversas foram semelhantes às observadas na Fase 2 e não houve diferença entre o grupo vacinado e o placebo na evolução da gestação das mulheres que engravidaram na fase de vacinação. A proporção de mulheres com novas doenças crônicas ou de origem autoimune foi a mesma nos dois grupos<sup>49</sup>.

Outros três ensaios clínicos avaliaram a imunogenicidade e segurança da vacina bivalente anti-HPV. Dois em adolescentes (meninas e meninos) e o terceiro em mulheres de 26 a 55 anos. O primeiro<sup>63</sup> avaliou meninas de 10 a 14 anos, sendo observados 100% de soroconversão e títulos duas vezes maiores que o grupo de mulheres jovens de 15 a 25 anos. A avaliação sorológica destas meninas mostrou que 3% eram positivas para HPV 16 e 4% para o HPV 18 na entrada do estudo, enquanto no grupo de 15 a 25 anos foi de 10% e 9%, respectivamente. A vacina foi segura e bem tolerada.

O segundo<sup>64</sup> avaliou a imunogenicidade e segurança em meninos de 10 a 18 anos. Da mesma forma que para as meninas, houve uma soroconversão em 100%. Os títulos observados foram maiores que os observados para as meninas de 10 a 14 anos. A vacina foi bem tolerada, com efeitos colaterais transitórios e leves.

Atualmente, a infecção HPV tem apresentado um pico de incidência bimodal, com primeiro pico em adolescentes e o segundo em mulheres de 45 a 50 anos<sup>65</sup>. As lesões pré-cancerosas também regredem menos frequentemente nas mulheres mais velhas (50%-80%) comparadas com as mulheres mais jovens (> 90%)<sup>66</sup>. O ter-

ceiro estudo<sup>67</sup> avaliou mulheres de 26 a 55 anos. A vacina foi bem tolerada e 100% soroconverteram 1 mês após a terceira dose. O pico de anticorpos nas mulheres de 46-55 anos no mês 7 (1 mês após a terceira dose da vacina) foi 84 vezes e 57 vezes maior para os HPV 16 e 18, respectivamente, que a infecção natural. A medicação foi bem tolerada e a dor no local da injeção foi o evento adverso mais frequente. Nenhum evento adverso sério foi observado.

A vacina bivalente anti-HPV (16 e 18) demonstrou ser imunogênica e bem tolerada em todos os ensaios clínicos e sua eficácia tem sido confirmada até 6,4 anos, com mais de 98% de soropositividade e 100% de eficácia na prevenção de NIC 2+ (95% IC 51-100)<sup>68</sup>.

A vacina contra HPV oncogênico está na rede pública do Reino Unido. Na Espanha, o governo dá a liberdade de escolha entre as duas vacinas, bivalente (HPV 16 e 18) e quadrivalente (HPV 6, 11, 16 e 18).

## VACINA QUADRIVALENTE ANTI-HPV (6, 11, 16 e 18)

A vacina quadrivalente anti-HPV é composta por uma mistura de quatro tipos diferentes de VLP derivadas das proteínas L1 do capsídeo dos HPV 6, 11, 16 e 18. Estas VLP L1 tipo-específicas são geradas em cultura usando tecnologia recombinante em leveduras do tipo *Saccharomyces cerevisiae* e, após purificação, são adsorvidas ao adjuvante sulfato de hidroxifosfato amorfo de alumínio<sup>51</sup>.

Vários estudos Fases 2 e 3 duplo-cegos, placebo-controlados, têm sido conduzidos com a vacina quadrivalente anti-HPV em homens, mulheres e adolescentes. Em uma análise combinada de quatro estudos clínicos randomizados<sup>53</sup>, com 20.583 mulheres de 16 a 26 anos, observou-se uma eficácia de 99% (95% IC 93-100) na prevenção de NIC 2/3 e AIS (adenocarcinoma *in situ*) em mulheres que eram negativas para os tipos de HPV contidos na vacina (PCR do trato genital negativo e sorologia anti-HPV negativa). Numa avaliação de todas as mulheres randomizadas, incluindo as mulheres infectadas e que fizeram pelo menos uma dose da vacina, a eficácia foi de 44% (95% IC 31-55) em 3 anos.

Em uma outra análise combinada de três estudos clínicos randomizados<sup>54</sup> envolvendo cerca de 18.000 mulheres na mesma faixa etária, observou-se uma eficácia de 100% para as lesões intraepiteliais de vulva (NIV 2/3) e vagina (NIVA 2/3) e 99% para o condiloma acuminado. Quando foram avaliadas todas as mulheres randomizadas, incluindo as infectadas e que fizeram pelo menos uma dose da vacina, a eficácia para estas lesões foi de 71% (95% IC 37-88).

Cerca de 2.266 mulheres engravidaram de forma inadvertida durante o período de vacinação. Não houve diferença entre as mulheres do grupo que recebeu a vacina e que recebeu placebo quanto à ocorrência de eventos adversos sérios e anormalidades do desenvolvimento embrião-fetal, sendo classificada como categoria B pelo FDA (*Food and Drug Administration Control*). No entanto, por ser uma medicação nova, não deverá ser realizada durante a gravidez<sup>52</sup>.

Um estudo com adolescentes, meninos e meninas de 9 a 15 anos<sup>56</sup> demonstrou uma excelente resposta imunogênica na produ-

ção de anticorpos do tipo neutralizante contra os HPV 6, 11, 16 e 18, com níveis inclusive superiores aos das mulheres jovens (16 a 26 anos) sexualmente ativas. A segurança e persistência da imunogenicidade também foram observadas em um grupo de 1.781 pré-adolescentes e adolescentes de ambos os sexos<sup>69</sup>. Este resultado pressupõe que o efeito protetor também seja adequado para este grupo etário. Com base nestes resultados de imunogenicidade em adolescentes meninos, a vacina quadrivalente anti-HPV já foi aprovada para adolescentes (9 a 15 anos) em 46 países.

Cerca de 4.065 homens (heterossexuais e homossexuais) de 16 a 26 anos estão sendo acompanhados há 3 anos para avaliar a eficácia da vacina quadrivalente contra o condiloma acuminado e as lesões pré-cancerosas e câncer do trato anogenital. Da mesma forma que a vacina foi eficaz para as lesões externas nas mulheres, observou-se uma eficácia de 90% para as lesões anogenitais benignas (condiloma acuminado) e até o momento (com 30 meses de acompanhamento), 100% de eficácia na prevenção das lesões pré-malignas e malignas anogenitais masculinas<sup>70</sup>.

Recentemente, foram divulgados os primeiros resultados de eficácia de um estudo com 3.819 mulheres de 24 a 45 anos na prevenção de doença associada aos HPV 6, 11, 16 e 18 ao longo de 2 anos<sup>71</sup>. A eficácia na prevenção de doença genital externa e cervical associada aos quatro tipos de HPV contidos na vacina foi de 90,5% (95%, IC 73,7-97,5). Para as doenças associadas isoladamente aos HPV 16 e 18, a eficácia foi de 83,1% (95%, IC 50,6-95,8).

Em uma avaliação preliminar de proteção cruzada contra outros tipos de HPV não presentes na vacina em mulheres de 16 a 26 anos, foi observada a eficácia contra NIC 2/3 e AIS de 62% (95%, IC 10-85) para os HPV 31/45, 43% (95% IC 7-66) para cinco HPV diferentes da vacina (31/33/45/52/58) e 38% (95% IC 6-60) para dez tipos diferentes (31/33/35/39/45/51/52/56/58/59)<sup>72</sup>. Frente a estes resultados, nove países (Austrália, Caribe, Chile, Colômbia, Equador, Filipinas, Guatemala, Honduras e México) já aprovaram o uso para mulheres até 45 anos.

A vacina foi segura e bem tolerada em todos os grupos estudados. Não houve diferença estatística entre o grupo que recebeu a vacina e o grupo-placebo quanto aos eventos adversos, e nenhum caso de óbito associado ao uso da vacina foi relatado. Os efeitos colaterais mais frequentes foram locais, como dolorimento, inchaço e hiperemia local<sup>51-56,69-71</sup>.

Até o momento, (7 anos de acompanhamento) não há evidência da necessidade de uma dose de reforço. Os níveis de anticorpos declinam após a vacinação e permanecem estáveis após o 24º mês até cerca de 6 anos. Um estudo avaliou a resposta imune após a utilização de uma nova dose da vacina (desafio) aos 5 anos<sup>73</sup>. Observou-se uma resposta anamnésica importante, com níveis de anticorpos, após 7 dias da injeção, superiores aos observados após a terceira dose. Esta demonstração de excelente memória imune suporta a ideia de que a vacina tenha uma eficácia duradoura (pelo menos 10 anos), mas a certeza disso só teremos com o passar dos anos.

A vacina quadrivalente já foi aprovada em mais de 109 países, com 40 milhões de doses administradas, sendo mais de 100 mil doses no Brasil. Vários países, tais como EUA, Canadá, Austrália, Israel, Dinamarca, Grécia, Liechtenstein e Espanha, já incluíram a

vacina quadrivalente anti-HPV no setor público. O poder público brasileiro ainda está avaliando que atitude tomar.

A eficácia da vacina em longo prazo e a necessidade de reforço ainda não estão definidas. Desta forma, o curto período de seguimento dos estudos limita a avaliação do impacto da vacina na redução do câncer de colo uterino, porém uma projeção dos dados atuais sugere que os resultados serão semelhantes.

## VACINA TERAPÊUTICA

As vacinas terapêuticas visam erradicar ou reduzir as células infectadas pelo HPV. Uma vez que a infecção pelo HPV já tenha se estabelecido, os anticorpos terão pouca participação na erradicação das células infectadas. Os linfócitos T citotóxicos (LTC) são os efetores primários da rejeição tumoral. Há muitas estratégias para estimular a produção dos LTC envolvendo as células apresentadoras de antígenos. Como a expressão das oncoproteínas E6 e E7 está associada aos casos de tumores, muitos esforços têm sido feitos para estimular os LTC contra E6 e E7. Estímulo dos LTC contra o capsídeo viral pode ter um papel na redução da extensão da infecção, mas não seria efetivo na redução das células neoplásicas<sup>62</sup>.

Para aumentar a imunogenicidade da proteína E7, um estudo fundiu a proteína E7 à *heat shock proteína 65* da vacina BCG. Esta fusão tem sido usada para imunizar homens com lesão de alto grau anal e verruga anogenital. Dos 14 pacientes com verrugas, três tiveram completa resolução e dez tiveram redução no tamanho da lesão em 70%-95%<sup>73</sup>. Houve uma redução para no mínimo uma lesão de baixo grau em 95% dos homens, com 44% de remissão completa.

Outros estudos têm mostrado que as células dendríticas e os vetores virais podem ser utilizados de forma mais efetiva para o estímulo à produção de LTC. Os melhores resultados para a vacina terapêutica em humanos têm sido obtidos usando vetores virais vivos, tais como um adenovírus para apresentar antígenos. As estratégias para vacina terapêutica estão mudando rapidamente com o entendimento do mecanismo necessário para estimular a imunidade inata e adaptativa<sup>67,74</sup>.

## CONCLUSÃO

As vacinas anti-HPV têm-se mostrado seguras, altamente imunogênicas e eficazes na prevenção da infecção HPV e lesões associadas<sup>22,37,42-55,61-64,67,68,73</sup>. As vacinas bivalente e quadrivalente apresentam uma eficácia de 100% na prevenção de NIC 2+ e adenocarcinoma *in situ* associados aos HPV 16 e 18 em até 7 anos de acompanhamento<sup>47-55,63,64,67,68</sup>.

A vacina quadrivalente apresenta, ainda, eficácia de 100% para NIV/NIVA 2+ associadas aos HPV 16 e 18 e 99% para condilomas acuminados associados aos HPV 6 e 11 em mulheres jovens<sup>54,55</sup>.

Em adolescentes (meninos e meninas) e mulheres de mais idade (até 45 a 55 anos), as vacinas profiláticas demonstraram ser altamente imunogênicas e seguras, com uma tolerabilidade comparada ao placebo<sup>63,64,67,69,71</sup>. A quadrivalente mostrou eficácia na prevenção de NIC 2+ de 92%<sup>71</sup>.

A eficácia em homens jovens sexualmente ativos tem sido de 90% para verruga genital e 100% para as lesões pré-cancerosas

penianas. Aguardam-se os resultados de proteção para as lesões anais em homens que mantêm relações com homens<sup>70</sup>.

Questões como por quanto tempo as vacinas serão efetivas, a necessidade de dose de reforço e a eficácia na prevenção de doenças HPV induzidas extragenitais serão respondidas com o tempo.

As vacinas são altamente eficazes para os tipos de HPV contidos na mesma, logo a proteção não é total para todos os casos de câncer e verrugas genitais, permanecendo a necessidade de manutenção do exame preventivo do colo uterino (Papanicolaou) e o uso consistente de preservativos nas relações sexuais nas mulheres vacinadas<sup>75</sup>.

Estudos futuros da vacina anti-HPV incluem a avaliação de uma segunda geração de vacinas com um número maior de vírus (VLP), vacinas terapêuticas, vacinas quiméricas com ação profilática e terapêutica, uso em crianças e adultos HIV (+), transplantados, em diferentes faixas etárias, doses e vias de administração. Muitas de nossas dúvidas e incertezas do momento só poderão ser sanadas com a continuidade dos estudos e a avaliação da medicação pós-comercialização, sobretudo no que diz respeito à epidemiologia dos tipos virais envolvidos nas doenças causadas por HPV.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Snijders PJ, Steenbergen RD, Heideman DA, Meijer CJ. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J Pathol* 2006; 208: 152-64.
- Wright TC, Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 consensus guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA* 2002; 287: 2120-9.
- Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. *Globocan 2002 cancer incidence. Mortality and prevalence worldwide. IARC Cancer Base* 2004; 5: 123-9.
- Ministério da Saúde. Estimativas 2008-2009: incidência do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro (Brasil); INCA 2008; disponível em: [www.inca.gov.br/estimativa/2008](http://www.inca.gov.br/estimativa/2008). Acessado em 23 de março de 2009.
- Sadjadi A, Malekzadeh R, Derakhshan MH, Sepehr A, Nouraire M, Sotoudeh M et al. Cancer occurrence in Ardabil: results of a population-based cancer registry from Iran. *Int J Cancer* 2003; 107(1): 113-8.
- Center for disease Controle and Prevention. Genital HPV infection Fact Sheet. National Prevention Information Network; 2004. Disponível em: <http://www.cdc.gov/std/HPV/hpv.pdf>. Acessado em 23 de julho de 2008.
- Worda C, Huber A, Hudelist G, Schatten C, Leipold H, Czerwenka K et al. Prevalence of Cervical and Intrauterine Human Papillomavirus Infection in the Third Trimester in Asymptomatic Women. *J Soc Gynecol Invest* 2005; 12: 440-4.
- Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 2005; 32: 16-24.
- Munoz N, Bosh FX, Castellsague X, Diaz M, De Sanjose S, Hammouda D et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int J Cancer* 2004; 111: 278-85.
- Park RB, Androphy EJ. Genetic analysis of human: risk E6 in episomal maintenance of human papillomavirus genomes in primary human keratinocytes. *J Virol* 2002; 76: 11359-64.
- Munoz N, Bosch FX, de San Jose et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 384: 518-27.
- Castellsague X, Bosch FX, Munoz N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus Res* 2002; 89: 191-9.
- Koskela P, Anttila T, Bjorge T, Brunsvig A, Dillner J, Hakama M et al. Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer. *Int J Cancer* 2000; 85: 35-9.
- Pereira DB, Antoni MH, Danielson A, Simon T, Efantis-Potter J, Carver CS. Life stress and cervical squamous intraepithelial lesions in women with human papillomavirus and human immunodeficiency virus. *Psychosom Med* 2003; 65: 427-34.
- Woodworth CD. HPV innate immunity. *Front Biosci* 2002; 7: 2058-71.
- Shepherd LJ, Bryson SC. Human papillomavirus - lessons from history and challenges for the future. *J Obstet Gynaecol Can* 2008; 30(11): 1025-33.
- Castellsague X. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2008; 110(3 Suppl 2): 4-7.
- Molano M, Vand de Brule A, Plummer M et al. Determinants of clearance of human papillomavirus infections in Colombian women with normal cytology: A population-based, 5-year follow-up study. *Am J Epidemiol* 2003; 158: 486-94.
- Pfister H. Human papillomaviruses and genital cancer. *Advances in Cancer Res* 1987; 48: 113-47.
- Duggan MA, Bbenoit JL, Mc Gregor SE et al. The human papillomavirus status of 114 endocervical adenocarcinoma cases by dot blot hybridization. *Human Pathol* 1993; 24: 121-5.
- Carter JJ, Madeleine MM, Shera K et al. Human papillomavirus 16 and 18 L1 serology compared across anogenital cancer sites. *Cancer Res* 2001; 61: 1934-40.
- Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Muñoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003; 88(1): 63-73.
- Ellerbrock TU, Chiasson MA, Bush TJ et al. Incidência de lesões escamosas intraepiteliais cervicais em mulheres infectadas pelo HIV. *JAMA Brasil* 2000; 4(5): 3124-38.
- Wright TC Jr, Ellembrock TU, Chiasson MA et al. Cervical intraepithelial neoplasia in women infected with human immunodeficiency virus. *Obstet Gynecol* 1994; 84: 591-7.
- Zur Hausen H. Condylomata acuminata and human genital cancer. *Cancer Res* 1976; 36: 794.
- Zur Hausen H. Papillomavirus Infections – a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1288: F55-78.
- Walker J, Bloss JD, Liad SY et al. HPV genotype as a prognostic indicator in carcinoma of the uterine cervix. *Obstet Gynecol* 1989; 74: 781-5.
- Goff BA. Endocervical glandular atypia in Papanicolaou smears. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 101-4.
- Ferenczy A. Viral testing for genital human papillomavirus infections: recent progress and clinical potentials. *Int J Gynecol Cancer* 1995; 5: 321-8.
- Law KS, Chang TC, Hsueh S, Jung SM, Tseng CJ, Lai CH. High prevalence of high grade squamous intraepithelial lesions and microinvasive carcinoma in women with a cytologic diagnosis of low grade squamous intraepithelial lesions. *J Reprod Med* 2001; 46: 61-4.
- Walboomers JM, Husman AM, Snijders PJ, Stel HV, Risse EK, Helmerhost TJ et al. Human papillomavirus in false negative archival cervical smears: implications for screening for cervical cancer. *J Clin Pathol* 1995; 48: 728-32.
- Nonnenmacher B, Breitenbach V, Villa LL, Prolla JC, Bozzetti MC. Identificação do papilomavírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. *Rev Saude Publica* 2002; 36: 95-100.
- Finan RR, Irani-Hakime N, Tamim H, Almawi WY. Molecular diagnosis of human papillomavirus: comparison between cervical and vaginal sampling. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2001; 9: 119-22.
- Ley C, Bauer HM, Reingold A et al. Determinants of genital human papillomavirus infection in young women. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 997-1003.
- Winer RL, Hughes JP, Feng Q et al. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 2006; 354: 2645-54.
- Dunn TS, Bajaj JE, Staff CA, Beaty B. Management of the minimally abnormal papanicolaou smear in pregnancy. *J Lower Genit Tract Dis* 2001; 5: 133-7.
- Schiller JT, Castellsagué X, Villa LL, Hildesheim A. An update of prophylactic human papillomavirus L1 virus-like particle vaccine clinical trial results. *Vaccine* 2008; 26(10): 53-61.
- Lowy DR, Frazer IH. Prophylactic human papillomavirus vaccines. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; 71: 111-6.
- Gillison ML, Chaturvedi AK, Lowy DR. HPV prophylactic vaccines and the potential prevention of noncervical cancers in both men and women. *Cancer* 2008; 113(10): 3036-46.
- Bubenik J. Genetically modified cellular vaccines for therapy of human papilloma virus type 16 (HPV 16) - associated tumours. *Curr Cancer Drug Targets* 2008; 8(3): 180-6.
- Parkin DM, Almonte M, Bruni L, Clifford G, Curado MP, Piñeros M. Burden and trends of type-specific human papillomavirus infections and related diseases in the latin america and Caribbean region. *Vaccine* 2008; 26(11): 1-15.
- Evans TG, Bonnez W, Rose RC et al. A Phase 1 study of a recombinant virus-like particle vaccine against human papillomavirus type 11 in healthy adult volunteers. *J Infect Dis* 2001; 183: 1485-93.
- Koutsky LA, Ault KA, Wheeler C et al. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *N Engl J Med* 2002; 347: 1645-51.

44. Rambout L, Hopkins L, Hutton B, Fergusson D. Prophylactic vaccination against human papillomavirus infection and disease in women: a systematic review of randomized controlled trials. *CMAJ* 2007; 177(5): 469-79.
45. Harro CD, Pang YY, Roden RB et al. Safety and immunogenicity trial in adult volunteers of a human papillomavirus 16 L1 virus-like particle vaccine. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 284-92.
46. Villa LL. Prophylactic HPV vaccines: reducing the burden of HPV-related diseases. *Vaccine* 2006; 24S1: S1/23-8.
47. Harper DM, Franco EL, Wheeler CM et al. A controlled trial of a human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomized controlled trial. *Lancet* 2004; 364: 1757-65.
48. Harper DM. Prophylactic human papillomavirus vaccines to prevent cervical cancer: review of the Phase II and III trials. *Therapy* 2008; 5(3): 313-24.
49. Paavonen J, Jenkins D, Bosch FX et al. Efficacy of a prophylactic adjuvanted bivalent L1 virus-like-particle vaccine against infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: an interim analysis of a Phase III double-blind, randomized controlled trial. *Lancet* 2007; 369: 2161-70.
50. Harper DM, Franco EL, Wheeler CM et al. Sustained efficacy up to 4,5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomized control trial. *Lancet* 2006; 367: 1247-55.
51. Villa LL, Costa RCR, Petta CA et al. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (Types 6, 11, 16 and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomized double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncology* 2005; 6(5): 271-8.
52. The FUTURE II Study Group. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions. *N Engl J Med* 2007; 356(19): 1915-27.
53. The FUTURE II Study Group. Effect of a prophylactic human papillomavirus L1 virus-like-particle vaccine on risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2, grade 3 and adenocarcinoma in situ: A combined analysis of four randomized clinical trials. *Lancet* 2007; 369: 1861-8.
54. Joura EA, Leodolter S, Hernandez-Avilla M, Wheeler CM. Efficacy of a quadrivalent prophylactic human papillomavirus (types 6, 11, 16 and 18) L1 virus-like-particle vaccine against high-grade vulval and vaginal lesions: A combined analysis of three randomized clinical trials. *Lancet* 2007; 369: 1693-702.
55. Garland SM, Hernandez-Avila M, Wheeler CM et al. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital diseases. *N Engl J Med* 2007; 356(19): 1928-43.
56. Block SL, Nolan T, Sattler C et al. Comparison of the immunogenicity and reactogenicity of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16 and 18) L1 virus-like particle vaccine in male and female adolescents and young adult women. *Pediatrics* 2006; 118: 2135-45.
57. Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, Tsu V, Ronco G, Mayrand MH et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine* 2008; 26(10): 29-41.
58. Muñoz N, Franco EL, Herrero R, Andrus JK, de Quadros C, Goldie SJ et al. Recommendations for cervical cancer prevention in Latin America and the Caribbean. *Vaccine* 2008; 26(11): 96-107.
59. Harper DM, Paavonen J. Age for HPV vaccination. *Vaccine* 2008; 26(1): 7-11.
60. Garland SM, Cuzick J, Domingo EJ, Goldie SJ, Kim YT, Konno R et al. Recommendations for cervical cancer prevention in Asia Pacific. *Vaccine* 2008; 26(12): 89-98.
61. Rowhani-Rahbar A, Mão C, Alvarez FB et al. Long-term efficacy of a prophylactic human papillomavirus type 16 vaccine. Abstract of 25 International Papillomavirus Conference 8-14 may 2009; Malmo, Sweden.
62. Galloway DA. Papillomavirus vaccines in clinical trials. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 469-74.
63. Pedersen C, Peäjä T, Strauss G et al. Immunization of early adolescent females with human papillomavirus type 16 and 18 L1 virus-like particle vaccine containing AS04 adjuvant. *J Adolesc Health* 2007; 40: 564-71.
64. Petäjä T, Keränen H, Karppa T et al. Immunogenicity and safety of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine in healthy boys aged 10-18 anos. *J Adolesc Health* 2009; 44: 33-40.
65. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 453-9.
66. Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med* 1997; 102(5A): 3-8.
67. Schwarz TF, Spaczynski M, Schneider A et al. Immunogenicity and tolerability of na HPV-16/18 AS04-adjuvanted prophylactic cervical cancer vaccine in women aged 15-55 anos. *Vaccine* 2009; 27: 581-7.
68. Harper DM, Naud P, Quint W et al. Sustained immunogenicity and high efficacy against HPV 16/18 related cervical neoplasia: long term follow up through 6,4 years in women vaccinated with Cervarix™. *Gynecol Oncol* 2008; 109(1): 158-9.
69. Reisinger KS, Block SL, Lazcano-Ponce et al. Safety and persistent immunogenicity of a quadrivalent human papillomavirus types 6, 11, 16, 18 L1 virus-like particle vaccine in preadolescents and adolescents. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26: 201-9.
70. Giuliano A, Palefsky J. The efficacy of quadrivalent HPV (types 6, 11, 16, 18) vaccine in reducing the incidence of HPV infection and HPV-related genital disease in young men. Abstracts SS19-7. EUROGIN, Nice – França 2008.
71. Muñoz N, Mandacostas Jr R, Pitisuttithum P et al. Safety, immunogenicity and efficacy of quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, 18) recombinant vaccine in women aged 24-45 years. A randomized, double-blind trial. *Lancet* 2009; 373: 1949-57.
72. Brown D, the FUTURE Study Group. HPV type 6/11/16/18 vaccine: first analysis of cross-protection against persistent infection, cervical intraepithelial neoplasia (CIN), and adenocarcinoma in situ (AIS) caused by oncogenic HPV types in addition to 16/18. Abstract G-1720b. EUROGIN, Nice – França 2008.
73. Olsson S-E, Villa LL, Costa RLR et al. Induction of immune memory following administration of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (HPV) types 6/11/16/18 L1 virus-like particle (VLP) vaccine. *Vaccine* 2007; 25: 4931-9.
74. Goldstone SE, Palefsky JM, Winnett MT et al. Activity of HspE7, a novel immunotherapy in patients with anogenital warts. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 502-7.
75. Carvalho NS, Teixeira J, Fedrizzi E, Focchi J, Mortoza G. Vacinas contra a infecção pelo HPV: recomendações da Comissão Nacional de Patologia do Trato Genital Inferior da FEBRASGO. *Editorial. Femina* 2009; 37(4): 179-80.

**Endereço para Correspondência:**

**PAULO CÉSAR GIRALDO**

Rua Dom Francisco de Campos Barreto, 145.

Campinas, SP, Brasil.

CEP: 13092-160

E-mail: giraldo@unicamp.br

Recebido em: 13/12/2008

Aprovado em: 25/03/2009



# CONDILOMA GIGANTE ANOGENITAL EM MENINA DE 12 ANOS VÍTIMA DE ABUSO SEXUAL - RELATO DE CASO

## *GIANT ANOGENITAL CONDYLOMA IN 12-YEAR-OLD-GIRL VICTIM OF SEXUALLY ABUSED – A CASE REPORT*

*Araiz CC Pereira<sup>1</sup>, Maria Luiza B Menezes<sup>2</sup>, Angelina F Maia<sup>3</sup>,  
Romualda CR Barros<sup>4</sup>, Deyse S Carmo<sup>5</sup>*

### RESUMO

Adolescente, 12 anos, com verrugas vulvares há sete meses; dor e odor fétido após uso de podofilina há três dias. Abuso sexual repetitivo. Tratamento para sífilis há 4 meses com dose única de penicilina benzatina. Ao exame: extenso condiloma vulvar, perineo e perianal, com áreas de necrose, secreção purulenta e odor fétido. Pele com manchas hipocrômicas, crostas em membros e tronco. Hipóteses diagnósticas: condiloma gigante infectado anogenital e sífilis secundária associada à piodermite. Realizado tratamento clínico e sintromico para sífilis secundária, com cobertura para infecção secundária e cervicite. Foi empregado imiquimode para tratamento de lesão verrucosa, com excelente resultado clínico.

**Palavras-chave:** abuso sexual da criança, condiloma acuminado, DST, tratamento

### ABSTRACT

Adolescent, 12 years old, with warts in vulva for seven months, pain and fetid odor after use of podofilina three days ago. Repetitive sexual abuse. Treatment for syphilis four months ago with a single dose of benzatin penicilin. On examination: extensive condyloma in vulva, perineum and perianal, with areas of necrosis, purulent discharge and fetid odor. Hypochromic stain on the skin, crusts on members and trunk. Diagnostic hypotheses: giant condyloma infected anogenital and secondary syphilis associated with piodermitis. Clinical and syndromic treatment were done for secondary syphilis, with coverage to secondary infection and cervicitis. Imiquimod was used for treatment of condyloma, with excellent clinical outcome.

**Keywords:** sexual abuse of children, genital warts, STD, treatment

## INTRODUÇÃO

A presença de uma doença sexualmente transmissível (DST) causa uma considerável morbidade entre os indivíduos acometidos, especialmente crianças, condição em que estão envolvidas sérias implicações médicas, sociais e legais<sup>1,2</sup>. Observa-se que a infecção anogenital pelo papilomavírus humano (HPV) vem apresentando um aumento da incidência em crianças<sup>3</sup>; isto pode ser reflexo da alta incidência desta infecção em adultos<sup>4</sup>. Estima-se que mais de 75% de adolescente e adultos sexualmente ativos, com idade entre 15 e 49 anos, adquiram ao menos um tipo de infecção pelo HPV durante sua vida<sup>5</sup>.

A forma clínica que mais comumente afeta as crianças são verrugas anogenitais<sup>3</sup>. O abuso sexual é considerado o principal modo de transmissão<sup>4,6</sup>, sendo encontrada história de abuso em 50% a 75% dos casos de condilomas em crianças<sup>7,8</sup>. Com isto, a simples presença de condilomas em criança deve alertar a família para uma cuidadosa investigação sobre abuso sexual<sup>3,9,10</sup>.

Outras vias de transmissão são sugeridas. As vias não sexuais, dentre elas a vertical, associam-se ao aparecimento do condiloma em crianças menores de três anos, visto que o período de latência da infecção pelo HPV dura cerca de 1 a 3 anos. Em

crianças com mais de 3 anos, principalmente maiores de 6 anos, a via sexual tem sido referida na maioria dos casos<sup>4,10</sup>. Ainda se fala da auto e heteroinoculação do HPV, dando origem às verrugas de pele<sup>3,7</sup>.

Os tipos de HPV encontrados nas lesões são distribuídos de acordo com as vias de transmissão. O HPV tipo 2 é mais comumente encontrado nas verrugas cutâneas, adquiridas por auto ou heteroinoculação; já os HPV tipos 6, 11, 16 e 18 são normalmente encontrados nos casos de transmissão vertical ou sexual<sup>3,9,11,12</sup>.

O tumor de Buschke-Löweintein ou condiloma gigante é uma lesão verrucosa, caracterizada pelo crescimento lento, com aparência histológica benigna e baixo risco de metástase. Está associado principalmente aos HPV 6 e 11<sup>13</sup>.

O HPV infecta inicialmente as células epiteliais, onde podem permanecer por um longo período de latência. Desta infecção latente, pode haver reativação ou infecção ativa persistente, com resultados cumulativos de mutação cromossômica no hospedeiro, dependendo do tipo do HPV; sendo assim, a infecção infantil pode levar a neoplasias no futuro<sup>8</sup>. As crianças infectadas são potencialmente de risco para desenvolver neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC), neoplasias intraepiteliais vulvares (NIV) e neoplasias intraepiteliais vaginais (NIVA)<sup>4</sup>.

Nos indivíduos da faixa etária infanto-puberal, a identificação de uma DST alerta para a ocorrência de abuso sexual. Em nosso meio, algumas populações estão inseridas em um ambiente de precárias condições socioeconômica e cultural e de alta prevalência de DST, o que facilita a exposição a esta problemática. Como consequência, algumas seqüelas podem surgir, como distúrbios comportamentais, emocionais, orgânicos, além do risco de gravidez na adolescência.

<sup>1</sup>Doutoranda da pós-graduação de Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

<sup>2</sup>Professora Adjunto da disciplina de Tocoginecologia da Universidade de Pernambuco.

<sup>3</sup>Médica do Setor de Colposcopia e Patologia do Trato Genital Inferior do HC-UFPE.

<sup>4</sup>Professora adjunto da disciplina de Ginecologia do UFPE.

<sup>5</sup>Doutoranda da pós-graduação de Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

Instituição: Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE).

## OBJETIVO

Descrever o caso clínico de uma paciente adolescente de 12 anos com condiloma gigante anogenital, vítima de abuso sexual, atendida no HC - UFPE.

## DESCRIÇÃO DO CASO CLÍNICO

CMS, 12 anos e 11 meses, atendida no HC-UFPE, apresentava “caroços” em vulva há 7 meses; corrimento, dor e odor fétido após automedicação com podofilina há 3 dias. Negava menarca. Telarca aos 11 anos. Coitarca aos 12 anos e abuso sexual repetitivo por parceiro de 25 anos, identificado como vizinho. Negava coito anal. Referia tratamento para sífilis há 4 meses com dose única de penicilina benzatina (1.200.000 UI IM). Não frequentava escola, pais separados, morava com a mãe, padrasto e irmãos menores, a renda familiar era de menos de um salário mínimo. Ao exame: mamas em desenvolvimento, estágio B4. Abdome sem anormalidades. Região anogenital com extenso condiloma em vulva, períneo e região perianal, com áreas de necrose, secreção purulenta e odor fétido (**Figura 1**). Pele com manchas hipocrômicas, crostas em membros e tronco (**Figuras 2A e 2B**). Foram sugeridas as seguintes hipóteses diagnósticas: condiloma gigante infectado anogenital e sífilis secundária associada à piodermite. Foi adotado tratamento clínico e sintomático para sífilis secundária (penicilina



**Figura 1:** Condiloma gigante infectado anogenital.



**Figura 2 A:** Crostas em membros

**Figura 2 B:** Manchas hipocrômicas em tronco.

benzatina 7.200.000 UI IM), com cobertura para infecção secundária, e cervicite (azitromicina, 1 g dose única e ciprofloxacino, 1 g/dia por 7 dias). Exames laboratoriais realizados concomitantes ao tratamento (VDRL e anti-HIV 1/2) foram não reagentes. Colposcopia revelou condiloma em terço distal de vagina. Colpocitologia oncológica foi negativa para células neoplásicas. Cerca de 10 dias depois de superada a infecção secun-



**Figura 3:** Lesões anogenitais após tratamento de infecção secundária.

dária (**Figura 3**), foi empregado imiquimode (três aplicações semanais por um período de 2 meses) para tratamento da lesão condilomatosa, com excelente resultado clínico (**Figura 4**).

## DISCUSSÃO

A presença de verrugas anogenitais na infância e adolescência está associada a alguns aspectos controversas em relação à epidemiologia, mecanismos de transmissão, e futuras consequências para as pacientes<sup>10</sup>. A possibilidade de abuso sexual deve ser sempre investigada como causa do problema, representando o principal modo de transmissão em certos grupos etários<sup>4,10</sup>.

O perfil das vítimas de abuso sexual no grupo infanto-puberal depende do sexo e da idade destas vítimas, ocorrendo entre 80% a 90% dos casos no sexo feminino e na idade de 7 a 8 anos<sup>7</sup>. A incidência de abuso sexual em crianças é bastante variável, observada entre 10% e 90% dos casos, e esta variação depende dos métodos de abordagens utilizados<sup>2,4,7</sup>. Uma consequência que surge após esta agressão é o risco de aquisição de DST<sup>1,7</sup>.

Em estudo clínico-epidemiológico, realizado na Índia em 2003<sup>1</sup>, foram analisadas 15.453 pacientes com DST, dos quais 0,82% pertenciam ao grupo pediátrico, tendo 66,1% destes pacientes entre 10 e 14 anos de idade. Condiloma acuminado foi a segunda manifestação mais frequente (14,2%), seguida de sífilis (25,2%). História ou sinais de abuso sexual estavam presentes em 74% dos pacientes.

Outro estudo epidemiológico sobre agentes sexualmente transmissíveis, avaliou 1.538 crianças de 1 a 12 anos. A infecção pelo HPV, dada pela presença do condiloma, ocorreu em 1,8%, sendo 43% destas pacientes vítimas de abuso sexual<sup>14</sup>.



**Figura 4:** Lesões anogenitais após tratamento com imiquimode por 2 meses.

Estudo nacional (1998)<sup>4</sup>, revelou que 50% das pacientes com condiloma acuminado tinham idade igual ou inferior a 5 anos e 16,7% apresentavam-se na faixa etária dos 11 aos 15 anos. O achado de abuso sexual como possível modo de transmissão do HPV só pode ser evidenciado em 11,1% das pacientes. A baixa prevalência de abuso sexual neste grupo pode ser explicada pela maneira de como foi feita a investigação<sup>3</sup>.

As condições sócio-econômico-culturais e a estrutura familiar adversas são importantes preditores para o aparecimento dos condilomas anogenitais<sup>2</sup>. Estudo de Pandhi et al (2003)<sup>1</sup>, revelou que 61,4% das crianças com diagnóstico de DST eram analfabetos e 70,9% apresentavam baixo nível sócio-econômico.

A literatura refere alguns fatores envolvidos no aparecimento de condilomas gigantes na infância e adolescência, tais como higiene precária, situação de vulnerabilidade sexual no ambiente onde estão inseridas estas pacientes e estado de imunodeficiência celular<sup>14</sup>.

Os condilomas anogenitais na infância e adolescência estão associados a sérios problemas médicos, sociais e legais<sup>3</sup>. A aquisição do HPV neste período não é uma causa imediata de morbidade grave, porém há evidências de que a exposição precoce precipite o desenvolvimento, bem como aumenta o risco, de cânceres anogenitais<sup>3,4</sup>.

Anormalidades comportamentais e psicológicas, como problemas escolares, depressão, baixa autoestima, criminalidade, gravidez na adolescência são sequelas bem documentadas entre as vítimas de abuso sexual<sup>10</sup>. Jovens que sofrem abuso sexual por agressor conhecido, geralmente apresentam menos traumas<sup>7</sup>. Observa-se também que em casos de múltiplos episódios de abuso, há risco aumentado de infecções por outros agentes sexual-

mente transmissíveis<sup>7</sup>, sendo necessária investigação de outras DST, como sífilis e HIV<sup>3,7,10</sup>.

Nota-se também em crianças vítimas de abuso sexual que o tratamento com sucesso dos condilomas leva à “normalização” dos distúrbios comportamentais, talvez pelo desaparecimento da lesão que diminui a constante evidência do abuso sexual<sup>10</sup>.

O tratamento ideal do condiloma neste grupo etário deveria ser de baixo custo, efetivo, atraumático e amplamente acessível, mas infelizmente esta realidade ainda não está disponível<sup>4</sup>. Métodos corriqueiramente utilizados são a destruição química ou mecânica da lesão<sup>4</sup>. Nos casos de condilomas gigantes, a excisão cirúrgica é bem indicada associada ou não a métodos destrutivos químicos<sup>13</sup>. Entretanto, nesta faixa etária, sequelas cicatriciais permanentes podem resultar destes tratamentos.

O imiquimode, um imunomodulador, surge como uma ótima opção terapêutica, apresentando alta efetividade sobre os condilomas gigantes, tendo como desvantagens o alto custo e o aparecimento de reação inflamatória<sup>15</sup>. No caso apresentado a aquisição do medicamento só foi possível mediante ação da Secretaria Estadual e Saúde através do Programa de DST/Aids.

Já a resolução espontânea do condiloma, em semanas ou meses, é uma evolução ocasional da infecção pelo HPV, sendo muito importante nestes casos medidas de higiene local<sup>4,8</sup>.

Apesar de existirem numerosos tratamentos para o condiloma, muitos destes não previnem a infecção persistente ou a frequência das recorrências<sup>8,16</sup>. Se não tratadas adequadamente, podem resultar em importantes sequelas físicas e emocionais. É essencial que sejam desenvolvidas estratégias para a prevenção do abuso sexual, principalmente em grupos mais vulneráveis, bem como adequadas medidas de aconselhamento<sup>1,10</sup>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pandhi D, Kumar S, Reddy BS. Sexually transmitted diseases in children. *J Dermatol* 2003; 30(4): 314-20.
- Hornor G. Ano-genital warts in children: Sexual abuse or not? *J Pediatr Health Care* 2004; 18(4): 165-70.
- Syripinen S, Puronen M. Human Papillomavirus Infections In Children: The Potential Role of Maternal Transmission. *Crit Rev Oral Biol Méd* 2000; 11(2): 259-74.
- Rehme MFB, Carvalho NS, Ihlenfeld MFK, Chuery ACS. Condiloma Acuminado em Crianças e Adolescentes. *Rev Bras Ginecol Obstet* 1998; 20(7): 377-80.
- Palefsky J. Screening for Anal and Cervical Dysplasia in HIV-Infected Patients. *The PRN Notebook* 2001; 6(3): 24-31.
- Budayr M, Ankney RN, Moore RA. Condyloma acuminata in infants and children. A survey of colon and rectal surgeons. *Dis Colon Rectum* 1996; 39(10): 1112-5.
- Hammerschlag MR. Sexually transmitted diseases in sexually abused children: medical and legal implications. *Sex Transm Inf* 1998; 74: 167-74.
- Sinal SH, Woods CR. Human papillomavirus infections of the genital and respiratory tracts in young children. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005; 16(4): 306-16.
- Derksen DJ. Children with condylomata acuminata. *J Fam Pract* 1992; 34(4): 419-23.
- Jesus LE, Lima OL, Neto C, Nascimento LMM, Araújo RC, Baptista AA. Anogenital warts in children: sexual abuse or unintentional contamination? *Cad Saúde Pública* 2001; 17(6): 1383-91.
- Smith YR, Haefner HK, Lieberman RW, Quint EH. Comparison of microscopic examination and human papillomavirus DNA subtyping in vulvar lesions of premenarchal girls. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2001; 14(2): 81-4.
- Gross G. Condylomata acuminata in childhood—pointing to sexual abuse. *Hautarzt* 1992; 43(3): 120-5.
- Ambriz-González G, Escobedo-Zavala LC, Carrillo de la Mora F, Ortiz-Arriaga A, Cordero-Zamora A, Corona-Nakamura A et al. Buschke-Löwenstein tumor in childhood: a case report. *J Pediatr Surg* 2005; 40(9):25-7.
- Ingram DL, Everett VD, Lyna PR, White ST, Rockwell LA. Epidemiology of adult sexually transmitted disease agents in children being evaluated for sexual abuse. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11(11): 945-50.
- Majewski S, Pniewski T, Malejczyk M, Jablonska S. Imiquimod is highly effective for extensive, hyperproliferative condyloma in children. *Pediatr Dermatol* 2003; 20(5): 440-2.
- Dommergues C, Quinet B. Treatment of pediatric genital condyloma. *Arch Pediatr* 2008; 15(4): 469-72.

### Endereço para correspondência:

**ARAIZ CAJUEIRO CARNEIRO PEREIRA**

Avenida Ministro Marcos Freire, 3141 - apto. 2003

Casa Caiada - Olinda - PE

CEP: 53130-540.

Tel: 55 81 3439-2526 / 55 81 9609-1179

Fax: 55 81 2126-8527

E-mail: ar Luiz@uol.com.br

Recebido em: 29/11/2008

Aprovado em: 28/12/2008

# CONDILOMA ACUMINADO EXTRAGENITAL ASSOCIADO AO INTERTRIGO: RELATO DE CASO

## ACUMINATA CONDYLOMA EXTRAGENITAL ASSOCIATED TO INTERTRIGO: CASE REPORT

Helena Lucia B Reis<sup>1</sup>, Alessandra A Oliveira<sup>2</sup>, Bruna O Capilla<sup>3</sup>, Daniela Pratti<sup>4</sup>, Dennis C Ferreira<sup>5</sup>, Philippe Godefroy C Souza<sup>6</sup>, Antônio Chambô Filho<sup>7</sup>

### RESUMO

**Introdução:** papilomavírus humano (HPV) é um vírus de DNA que pode infectar a pele e mucosas, com mais de 100 tipos diferentes descritos, sendo 45 deles considerados sexualmente transmissíveis. **Objetivo:** relatar o caso de condiloma acuminado extragenital, facilitado pela presença de intertrigo. **Métodos:** relato de caso de paciente com condiloma acuminado em região hipogástrica. **Resultados:** mulher atendida no ambulatório de DST/AIDS do setor de Ginecologia da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, em 2007, com 46 anos de idade, apresentando lesão condilomatosa extensa associada à intertrigo em região hipogástrica, acima da cicatriz de Pfannestiel e pequenas lesões vulvares compatíveis, clinicamente, com condilomas. Feita a opção pela exérese cirúrgica em lesão de abdome, a qual evidenciou condiloma acuminado e cauterização química de lesões vulvares. Solicitados exames para doenças sexualmente transmissíveis, que foram normais, incluindo citologia oncológica, colposcopia e teste rápido para gonococo e clamídia. **Conclusão:** a umidade e o calor locais, provocados pelo abdome em avental, com concomitância de área de intertrigo, poderiam justificar a presença de condiloma acuminado nesta região.

**Palavras-chaves:** condiloma acuminado, HPV, DST, intertrigo

### ABSTRACT

**Introduction:** the human papillomavirus (HPV) is a DNA virus that can infect skin and mucosa, already described in more than 100 different types, being 45 of those considered to be sexually transmitted. **Objective:** report the extra-genital case of condyloma acuminata, facilitated by the presence of intertrigo. **Method:** report of a case of female patient presenting extensive condylomatous lesions associated to intertrigo in hypogastric region. **Results:** a 46-year-old female patient assisted in the DST/AIDS Clinic of the Gynecology Sector at Santa Casa de Misericórdia from Vitória in 2007, presenting extensive condylomatous lesions associated to intertrigo in hypogastric region above the Pfannestiel scar and small compatible vulvar verrucosa lesions suggestive of condyloma. Surgical excision was made in the abdomen lesion which evidenced condyloma acuminatum and chemical cauterization of vulvar warts. Tests for sexually transmitted diseases were requested, all of them were normal, including oncotic cytology, colposcopy and fast test for gonococcus and chlamydia. **Conclusion:** local humidity and heat provoked by abdomen in apron with concurrence of area of intertrigo could justify the presence of condyloma acuminatum in this region.

**Keywords:** HPV, condyloma acuminata, STD, intertrigo

## INTRODUÇÃO

O vírus do papiloma humano (HPV) pertencente à família *Papillomaviridae*, com aproximadamente 50 mm de diâmetro, com seu genoma constituído de DNA de fita dupla<sup>1,2</sup>, caracteriza-se como um vírus não cultivável e que não produz infecção em outras espécies, tendo hospedeiro e tecido específicos<sup>3</sup>. O HPV pode provocar uma série de lesões epiteliais cutâneas e ou mucosas baseadas na suscetibilidade do tecido ao vírus<sup>3,4</sup>.

Atualmente, já foram identificados acima de 100 subtipos de HPV, sendo a sua transmissão por contato sexual, vertical, contato direto e via fômites, sendo as duas últimas menos frequentes<sup>5,6,7</sup>.

O intervalo entre a contaminação e o aparecimento das lesões pode variar de semanas a décadas, dependendo de tipo viral pre-

sente, cofatores como tabagismo e da resposta imunológica do indivíduo<sup>6</sup>.

As verrugas genitais, que são descritas como condiloma acuminado, aparecem frequentemente no pênis, na genitália feminina ou região anal, apresentando relatos desde a antiguidade, mas somente no século XX a etiologia das mesmas pôde ser confirmada, através de experimentos<sup>1,8</sup>.

O diagnóstico do condiloma acuminado restringiu-se, primeiramente, ao aspecto clínico e patológico e, atualmente, ocorre disponibilidade de métodos de biologia molecular que detectam a sequência de DNA do HPV do material em análise, possibilitando determinar o tipo específico do mesmo<sup>9</sup>.

Ainda na região genital, também pode ocorrer uma inflamação nas dobras do corpo, que é o intertrigo, envolvendo usualmente áreas inframamárias e genitocrurais, que foi previamente citado, tendo como fatores predisponentes a obesidade, a fricção e a umidade. Durante sua evolução pode ser acompanhada por infecção secundária. Existe uma similaridade com relação aos fatores locais das áreas de intertrigo e da genitália, o que pode justificar o aparecimento de lesões condilomatosas em área extragenital, onde pode ocorrer a inflamação descrita, embora de forma rara<sup>10</sup>.

Deste modo, o objetivo deste estudo foi descrever o relato de um caso de uma paciente que apresentava condiloma acuminado extragenital associado ao intertrigo em região hipogástrica, enfatizando a possibilidade deste diagnóstico, não comum ao alcance do clínico.

<sup>1</sup>Médica Coordenadora do ambulatório de DST/Aids da Ginecologia da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, ES.

<sup>2</sup>Médica Residente em Ginecologia e Obstetrícia da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, ES.

<sup>3</sup>Médica Residente em Ginecologia e Obstetrícia da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, ES.

<sup>4</sup>Médica Residente em Ginecologia e Obstetrícia da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, ES.

<sup>5</sup>Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente - UFF, RJ.

<sup>6</sup>Prof. Assistente de Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Valença, RJ.

<sup>7</sup>Médico do Setor de DST - UFF, RJ.

<sup>8</sup>Professor Doutor Gineco-Obstetra, chefe da residência médica em Ginecologia e Obstetrícia da Santa Casa de Misericórdia de Vitória-ES.

## RELATO DE CASO

Paciente do sexo feminino, com 46 anos, branca, viúva há 10 anos, cabeleireira, residente no município de Cariacica – Espírito Santo (ES), compareceu ao Ambulatório de DST/AIDS, do Serviço de Ginecologia do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Vitória-ES, em julho de 2007, relatando prurido em região hipogástrica e perineal há dois meses, uso de corticoide tópico prévio, prescrito por outro serviço, durante 7 dias, e na semana anterior à consulta, notou o aparecimento de verrugas em região abdominal e genital.

A paciente apresentava nível médio de escolaridade, menarca aos 13 anos, coitarca aos 15 anos, três gestações sendo uma gemelar, três partos cesáreos, o último com salpingotripsia, número total de parceiros em torno de dez durante um período de 30 anos e no último ano sem parceiro fixo, relatando uso de preservativo ocasional, coito oral e anal, tabagismo e etilismo social, negando uso de drogas ilícitas.

Ao exame físico foi observado abdome em avental (**Figura 1**) e sua dobra, em torno de 2 centímetros acima da cicatriz de Pfannenstiel, demonstrava área de intertrigo com extensa lesão verrucosa, com aproximadamente 12 cm de comprimento por 1 cm de largura (**Figura 2**). Na região vulvar apresentava pequenas lesões verrucosas sugestivas de condiloma acuminado. O exame especular apresentava-se normal, colpocitologia, colposcopia e exame otorrinolaringológico sem alterações. Também foram realizados exames de investigação para HIV, sífilis, hepatite B e C, clamídia e gonorreia, que foram negativos.

Inicialmente, foi realizada cauterização química das lesões vulvares e tratamento tópico com antisséptico, para o intertrigo, e a seguir, a paciente foi encaminhada para exérese cirúrgica da lesão abdominal. O resultado do histopatológico da lesão extragenital foi compatível com condiloma acuminado (**Figuras 3 e 4**) e a PCR revelou a presença do HPV, não esclarecendo o tipo viral.

A paciente continua em acompanhamento de rotina ginecológica e dermatológica neste serviço, com cura clínica das lesões, não ocorrendo recidivas nos 18 meses posteriores à exérese das mesmas.

## DISCUSSÃO

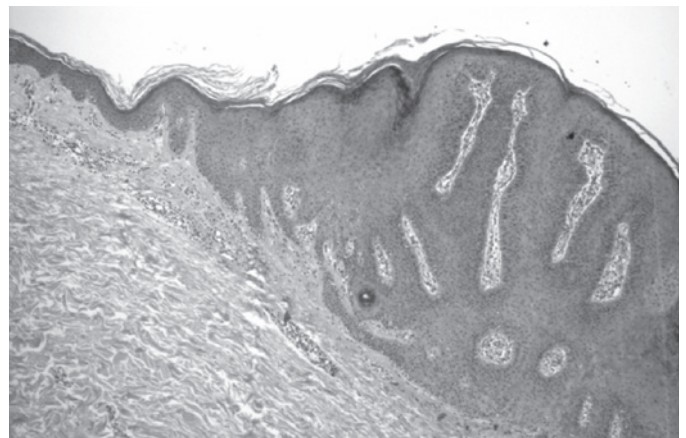
O condiloma acuminado é classicamente encontrado em áreas anogenitais. No entanto, a descrição do presente caso demonstrou a presença de lesões em área extragenital associada ao intertrigo. O intertrigo é uma dermatose inflamatória que acomete dobras e pregas cutâneas, principalmente em indivíduos obesos, em climas quentes. Devido ao atrito da pele, umidade, calor e retenção de suor, que podem favorecer à infecção secundária por bactérias e fungos, devido à maceração local<sup>11</sup>, talvez possa ser explicada a ocorrência do condiloma acuminado na dobra inferior do abdome da paciente (abdome em avental), que apresentava baixa luminosidade e calor local. No controle do intertrigo é fundamental manter a pele seca, para combater o crescimento de fungos e bactérias, e medicação antisséptica tópica, que foi utilizada no presente caso, por orientação de dermatologista, após o correto diagnóstico da lesão.



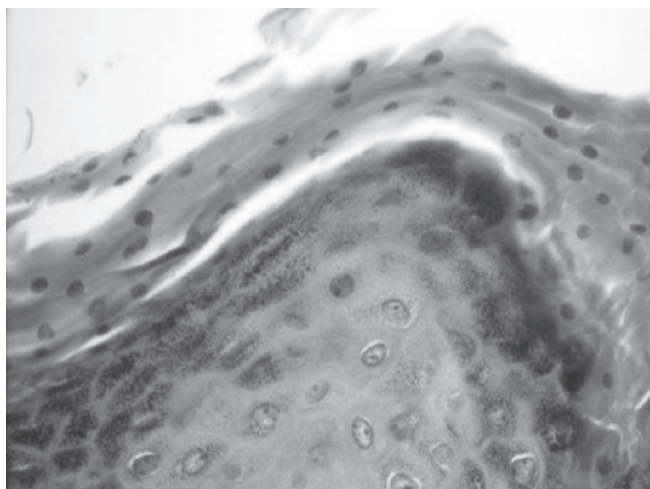
**Figura 1** - Abdome em avental ocultando a lesão condilomatosa



**Figura 2** - Lesão condilomatosa abdominal acima da cicatriz Pfannenstiel



**Figura 3** - Fotomicrografia médio aumento, mostrando lesão proliferativa epitelial com papilomatose e paraceratose.



**Figura 4** - Fotomicrografia médio aumento, mostrando hipergranulose e hiperqueratose.

Supõe-se que a facilidade de infecção pelo vírus, na pele queratinizada, é devido à destruição da barreira epitelial causada pelo intertrigo, o que também poderia justificar a presença de condiloma acuminado em cicatriz cirúrgica abdominal, conforme relatado por alguns autores<sup>10,12</sup>.

As verrugas anogenitais são lesões altamente infecciosas, sendo o coito a forma de transmissão mais comum, embora já tenha sido descrita autoinoculação, contaminação por fômites e por jogos sexuais<sup>5,6,7</sup>, o que poderia explicar o caso estudado em que a paciente afirma possuir preferência por coito em posição ortostática. Cabe ressaltar que a mesma não apresentava lesões em mãos ou outros lugares, senão nos já descritos. O tratamento das lesões devido ao HPV visa a remoção das mesmas e, nesse caso, foi feita opção pela exérese cirúrgica, devido ao seu tamanho e localização, além da possibilidade de estudo histopatológico e análise molecular.

Alguns trabalhos na literatura corrente relatam que o diagnóstico do HPV é feito por exame clínico, biópsia e técnicas de biologia molecular, podendo descrever o seu subtipo viral<sup>13</sup>. O exame clínico demonstra a morfologia da lesão e o histopatológico às alterações celulares compatíveis com a infecção viral, como presença de coilocitos com halos citoplasmáticos perinucleares, displasias nucleares, disqueratócitos, metaplasias, macrófagos e binucleação<sup>14</sup>.

## CONCLUSÃO

Com esse estudo sugerimos que as condições locais, em áreas de intertrigo, podem ter contribuído para o desenvolvimento do

condiloma acuminado extragenital e salientamos que o diagnóstico precoce para tratamento eficaz dessas lesões estão ao alcance dos especialistas, que atendem em ambulatórios de DST, assim como de outros profissionais da área de saúde.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dias EP. Papilomavírus humano: aspectos biológicos, clínicos e morfológicos. *JBM* 1993; 64 (6): 206-10.
2. Iftner T, Villa LL. Chapter 12: Human papillomavirus technologies. *J Natl Cancer Inst Mono* 2003; 31:80-8.
3. Sarruf MBJ, Dias PE. Avaliação citopatológica da cavidade bucal em pacientes portadores de infecção genital pelo papiloma vírus humano. *J bras Doenças Sex Transm* 1997; 2(9): 18-24.
4. Mei-Ju K, Chia-Yu C. Disseminated human papillomavirus type 11 infection in a patient with pemphigus vulgaris: Confirmed by DNA analysis. *J Am Acad Dermatol* 2004; 51: 190-93
5. Wright J, Hines J. Condyloma acuminata: treatment strategies for the primary care provider. *Prim Care Update Ob/Gyn* 2000; 7: 35-9.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis. PNDST/AIDS- 4ª. Ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.
7. Premoli-de-Percoco G, Schneider A, Mainhardt G, de Villiers EM, Ramirez J. Focal Epithelial Hyperplasia: Human-peplum vírus-induced disease with a Genetic predisposition in a Venezuelan family. *Hum Genet* 1993; 91: 386-88
8. Penneys N. Diseases caused by viruses. In: Elder D, Elentsas R, Jaworsky C, editors. *Lever's Histopathology of the Skin*. 8ª Ed. Philadelphia, PA: Lippincott; 1997. p.569-78
9. Ting Y, Manos MM. Detection and typing of genital human papillomavirus. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ et al, *PCR Protocols: A Guide To Methods and Applications*. San Diego: Academic Press; 1990. p. 356-67.
10. Yell JÁ, Sinclair R, Mann S, Fleming K, Ryan TJ. Human papillomavirus type 6-induced conyomata: an unusual complication of intertrigo. *British Journal of Dermatology* 1993; 128: 575-77.
11. Netto AR, Ribalta JC, Focchi J, Focchi GR. Dermatoses vulvares. *Femina* 2006; 34(12): 793-800.
12. Passos MR, Frias MC, Aguiar CB, Varella RQ, Pinheiro VM, Ledy HS, Cavalcanti SM. Condilomas acuminados extra-genital. *DST – J bras Doenças Sex Transm* 2002; 14(1): 54-57
13. Veras TM, Junior FH, Lins MZ, Gomes JT, Lima FO, Silva JB. Efetividade da captura híbrida para HPV no rastreamento primário de lesões cervicais na rotina de serviços de saúde. *DST – J bras Doenças Sex Transm* 2006; 18(1): 23-9.
14. Camargo AF, Hugo MV. Ginecologia ambulatorial. Belo Horizonte: Coopamed; 2001. p. 397-400.

### Endereço para correspondência:

**HELENA LUCIA BARROSO DOS REIS**

Avenida Nossa Srª da Penha, Edifício Century Tower, sala 413-B

Praia do Canto, Vitória-ES. CEP: 29055-131.

Telefone: 55 27 3322-0074; FAX: 55 27 3325-1370

E-mail: hbarroso@intervip.com.br

Recebido em: 23/05/2008

Aprovado em: 12/09/2008

# REATIVAÇÃO DE HPV GENITAL EM PACIENTE INFECTADA PELO HIV ASSOCIADA À SÍNDROME DA RECONSTITUIÇÃO INFLAMATÓRIA IMUNE

## REACTIVATION OF GENITAL HPV IN A PATIENT INFECTED BY HIV ASSOCIATED WITH IMMUNE RECONSTITUTION INFLAMMATORY SYNDROME

Regina Célia SC Fernandes<sup>1</sup>, Luciana C Araújo<sup>2</sup>, Enrique Medina-Acosta<sup>3</sup>

### RESUMO

É estimado que de 10% a 20% dos pacientes com grave imunodeficiência secundária à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e submetidos à terapia antirretroviral de alta atividade (HAART) apresentem doença associada à síndrome da reconstituição inflamatória imune, na maior parte dos casos com curso benigno e muito raramente com evolução para óbito. No presente estudo, relatamos uma apresentação pouco frequente da síndrome, relacionada à infecção pelo papilomavírus humano (HPV) e que suscitou confusão com o agravamento da infecção pelo HIV por ineficácia do esquema antirretroviral prescrito.

**Palavras-chave:** HAART, HIV, HPV, síndrome da reconstituição inflamatória imune, terapia antirretroviral de alta atividade, papilomavírus humano

### ABSTRACT

It has been estimated that about 10 to 20% of patients with severe immune deficiency related to the infection with the human immunodeficiency virus (HIV) and submitted to Highly active antiretroviral therapy (HAART) develop diseases associated with the immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS), with a benign course in most cases and rarely evolving to death. In the present study, we report on a very uncommon presentation of IRIS related to infection with human papillomavirus (HPV) and that was incorrectly interpreted as progression of HIV disease due to the unsuccessful antiretroviral therapy.

**Keywords:** HAART, highly active antiretroviral therapy, HIV, HPV, human papillomavirus, immune reconstitution inflammatory syndrome, IRIS

## INTRODUÇÃO

A utilização da terapia antirretroviral de alta atividade (HAART) frequentemente restaura a resposta imune protetora e específica contra agentes infecciosos<sup>1-3</sup>, porém em 10% a 25% dos casos há um aumento paradoxal da resposta inflamatória imune acompanhado de manifestações clínicas atípicas<sup>4</sup>. Nesta eventualidade além da atuação sobre o patógeno faz-se necessário o uso de drogas anti-inflamatórias e imunossupressoras<sup>5</sup>. Este quadro é conhecido como a síndrome da reconstituição inflamatória imune e se manifesta nos primeiros 3 a 6 meses após o início da terapia antirretroviral, atingindo pacientes severamente imunodeprimidos (CD4 < 200 cel/μL). Vários agentes infecciosos têm sido associados com a síndrome de reconstituição imune: micobactérias tuberculosa<sup>6-8</sup> e não tuberculosa<sup>7,9-11</sup>, herpes vírus simplex<sup>12</sup>, *Mycobacterium leprae*<sup>13</sup>, poliomavírus JC humano<sup>2</sup>, papilomavírus humano (HPV)<sup>1</sup>, vírus do molusco contagioso<sup>1</sup>, etc. Em alguns casos pode haver inclusive a evolução para o óbito<sup>14</sup>. A doença da restauração imune deve ser diferenciada de uma doença oportunística ou da toxicidade pelas drogas. A ocorrência de casos de disseminação regional e sistêmica do bacilo de Calmette-Guerin (BCG)<sup>15-17</sup> nos países em desenvolvimento aonde a vacina é amplamente

utilizada e em consequência da reconstituição imune, evidencia a necessidade do reconhecimento dos fatores de risco para o seu surgimento e a obrigatoriedade de um seguimento atento levando em consideração esta eventualidade<sup>18</sup>.

## Aspectos éticos

A participação neste estudo foi voluntária, com assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido pela responsável legal da criança e aprovação pelo Programa Municipal de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS de Campos dos Goytacazes. O estudo faz parte de um projeto de pesquisa sobre a síndrome de reconstituição inflamatória imune aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina de Campos.

## RELATO DE CASO

Uma adolescente de 13 anos de idade com infecção pelo HIV adquirida por transmissão vertical teve o diagnóstico estabelecido ainda no primeiro ano devido a múltiplas internações hospitalares causadas por infecções bacterianas de repetição. Iniciamos o seu acompanhamento aos 10 anos de idade, quando usava o esquema Estavudina, Didanosina e Saquinavir-Ritonavir, além das profilaxias para infecções por *Pneumocystis* e *Mycobacterium avium-intracellulare* tendo uma carga viral de 19.000 cópias/mL e CD4 de 39 cel/μL. Seis meses após o início da associação Lamivudina, Didanosina, Efavirenz e Lopinavir-Ritonavir e com carga viral de 970 cópias/mL e CD4 de 923 cel/μL, apresentou múltiplas verrugas do papilomavírus (um total de 30 lesões) na vulva, clitóris e introito vaginal. A menor já tinha apresentado 2

<sup>1</sup>Médica Pediatra, Mestre e Doutora em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Professora da Disciplina de Pediatria da Faculdade de Medicina de Campos; Programa Municipal de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS de Campos dos Goytacazes.

<sup>2</sup>Bióloga, Mestre em Biociências e Biotecnologia; Hospital Municipal Geral de Guarus.

<sup>3</sup>Mestre e Doutor em Parasitologia Médica e Molecular, Professor Associado do Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.



verrugas durante a fase de imunodepressão severa e que foram tratadas com sucesso pelo ácido tricloroacético. HBsAg negativo, anti-HCV negativo e VDRL negativo. Menor havia sofrido abuso sexual aos 4 anos de idade.

## DISCUSSÃO

A síndrome da reconstituição inflamatória imune já tinha sido descrita antes da epidemia pelo HIV em pacientes com hanseníase, tuberculose e hepatite B<sup>11</sup>. Na era da infecção pelo vírus HIV, o primeiro relato data do uso de monoterapia com zidovudina<sup>1</sup>. O emprego da terapia antirretroviral de alta atividade tem permitido uma rápida restauração da função imune<sup>11</sup> associada a uma redução da carga viral. Há elevação inicial das células CD4 de memória seguida pelo aumento das células CD4 naive, 4 a 6 semanas após o início do tratamento<sup>19</sup>. Estas alterações quantitativas são associadas com recuperação das respostas proliferativas contra vários patógenos<sup>20</sup>. A restauração da hipersensibilidade retardada e da produção de citocinas pode ser responsável pelas lesões inflamatórias descritas na síndrome<sup>2</sup>. Bourgarit *et al.*<sup>21</sup> demonstraram uma exacerbação aguda das respostas Th1 contra antígenos micobacterianos em pacientes coinfectados por HIV e *Mycobacterium tuberculosis* e tratados com HAART, que desenvolveram a síndrome da restauração imune. Os agentes infecciosos envolvidos são patógenos oportunistas como: micobactérias tuberculosa ou não, *Cryptococcus*, *Pneumocystis*, *Cytomegalovirus*, vírus *Varicela-Zoster*, papilomavírus humano, etc. A sua frequência é de 10% a 20%, não sendo influenciada por profilaxia primária ou secundária contra alguns dos agentes acima relatados<sup>11</sup>. Os fatores reconhecidamente de risco para o seu desenvolvimento são: infecção ativa ou subclínica por germes oportunistas ou presença de microorganismos oportunistas não viáveis; uma contagem de CD4 muito baixa (< 50 cel/μL); e provável suscetibilidade genética a síndrome de reconstituição inflamatória imune relacionada a alguns agentes infecciosos, como micobactérias e herpes vírus<sup>2</sup>.

O diagnóstico se baseia em critérios maiores que são: apresentação atípica de uma infecção oportunística em um paciente que apresenta boa resposta à HAART; queda da carga viral plasmática do HIV. Os critérios menores seriam: o aumento na contagem dos linfócitos CD4; a recuperação na resposta imune específica contra certos patógenos; e a resolução espontânea da doença muitas vezes apenas com a manutenção da terapia antirretroviral.

Os dois critérios maiores ou um critério maior e dois menores permitiriam o diagnóstico da síndrome<sup>2</sup>. Nossa paciente apresentou uma disseminação da sua infecção quiescente pelo HPV na vigência de um tratamento bem sucedido pela HAART e com queda da carga viral de 19.000 para 970 cópias/mL. Além de preencher os dois critérios maiores, ela também preencheu dois menores: reconstituição imunológica após período de grave imunodepressão (CD4 subiu de 39 para 923 cel/μL) e teve resolução das lesões de HPV com a manutenção da HAART, além do uso da terapia tópica pertinente.

## CONCLUSÃO

O presente caso ilustra uma possível consequência do uso da terapia antirretroviral de alta atividade em pacientes infectados

pelo HIV com grave alteração da imunidade e infecção oportunística quiescente. O tratamento antirretroviral potente alterou, por meio da reconstituição imune, a história de infecção pelo HPV em paciente pediátrico. Para o nosso conhecimento, este caso constitui o primeiro relato no Brasil de reativação de HPV genital em criança após tratamento antirretroviral potente. A doença pela reconstituição imune deve ser sempre considerada neste cenário e certamente pode ser a causa de alguns óbitos ocorridos nas primeiras semanas após a instituição da HAART e de origem não esclarecida. A infecção pelo HPV apesar de raramente associada também está incriminada no desenvolvimento da síndrome de reconstituição inflamatória imune.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à participação da criança e da responsável legal pelo consentimento livre e esclarecido. O trabalho foi financiado pela Secretaria Municipal de Saúde da cidade de Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil e pelo Programa Nacional de DST/Aids.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. French MA, Lenzo N, John M, Mallal SA, McKinnon EJ, James IR et al. Immune restoration disease after the treatment of immunodeficient HIV-infected patients with highly active antiretroviral therapy. *HIV Med* 2000; 1(2): 107-115.
2. French MA, Price P, Stone SF. Immune restoration disease after antiretroviral therapy. *Aids* 2004; 18(12): 1615-1627.
3. Stone SF, Price P, French MA. Immune restoration disease: a consequence of dysregulated immune responses after HAART. *Curr HIV Res* 2004; 2(3): 235-242.
4. Ratnam I, Chiu C, Kandala NB, Easterbrook PJ. Incidence and risk factors for immune reconstitution inflammatory syndrome in an ethnically diverse HIV type 1-infected cohort. *Clin Infect Dis* 2006; 42(3): 418-427.
5. Stoll M, Schmidt RE. Adverse events of desirable gain in immunocompetence: the Immune Restoration Inflammatory Syndromes. *Autoimmun Rev* 2004; 3(4): 243-249.
6. Schluger NW, Perez D, Liu YM. Reconstitution of immune responses to tuberculosis in patients with HIV infection who receive antiretroviral therapy. *Chest* 2002; 122(2): 597-602.
7. Buckingham SJ, Haddow LJ, Shaw PJ, Miller RF. Immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV-infected patients with mycobacterial infections starting highly active anti-retroviral therapy. *Clin Radiol* 2004; 59(6): 505-513.
8. Lawn SD, Bekker LG, Wood R. How effectively does HAART restore immune responses to *Mycobacterium tuberculosis*? Implications for tuberculosis control. *Aids* 2005; 19(11): 1113-1124.
9. Lawn SD, Bicanic TA, Macallan DC. Pyomyositis and cutaneous abscesses due to *Mycobacterium avium*: an immune reconstitution manifestation in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis* 2004; 38(3): 461-463.
10. Lawn SD, Bekker LG, Miller RF. Immune reconstitution disease associated with mycobacterial infections in HIV-infected individuals receiving antiretrovirals. *Lancet Infect Dis* 2005; 5(6): 361-373.
11. Phillips P, Bonner S, Gataric N, Bai T, Wilcox P, Hogg R et al. Nontuberculous mycobacterial immune reconstitution syndrome in HIV-infected patients: spectrum of disease and long-term follow-up. *Clin Infect Dis* 2005; 41(10): 1483-1497.
12. Domingo P, Torres OH, Ris J, Vazquez G. Herpes zoster as an immune reconstitution disease after initiation of combination antiretroviral therapy in patients with human immunodeficiency virus type-1 infection. *Am J Med* 2001; 110(8): 605-609.
13. Pereira GA, Stefani MM, Araujo Filho JA, Souza LC, Stefani GP, Martelli CM. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and *Mycobacterium leprae* co-infection: HIV-1 subtypes and clinical, immunologic, and histopathologic profiles in a Brazilian cohort. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 71(5): 679-684.
14. Safdar A, Rubocki RJ, Horvath JA, Narayan KK, Waldron RL. Fatal immune restoration disease in human immunodeficiency virus type 1-infected patients

- with progressive multifocal leukoencephalopathy: impact of antiretroviral therapy-associated immune reconstitution. *Clin Infect Dis* 2002; 35(10): 1250-1257.
15. Sharp MJ, Mallon DF. Regional Bacillus Calmette-Guerin lymphadenitis after initiating antiretroviral therapy in an infant with human immunodeficiency virus type 1 infection. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17(7): 660-662.
  16. Hesseling AC, Schaaf HS, Hanekom WA, Beyers N, Cotton MF, Gie RP et al. Danish bacille Calmette-Guerin vaccine-induced disease in human immunodeficiency virus-infected children. *Clin Infect Dis* 2003; 37(9): 1226-1233.
  17. Hesseling AC, Rabie H, Marais BJ, Manders M, Lips M, Schaaf HS et al. Bacille Calmette-Guerin vaccine-induced disease in HIV-infected and HIV-uninfected children. *Clin Infect Dis* 2006; 42(4): 548-558.
  18. de Souza Campos Fernandes RC, de Araujo LC, Medina-Acosta E. Reduced rate of adverse reactions to the BCG vaccine in children exposed to the vertical transmission of HIV infection and in HIV-infected children from an endemic setting in Brazil. *Eur J Pediatr* 2008; DOI 10.1007/s00431-008-0822-y: 691-696.
  19. Autran B, Carcelain G, Li TS, Blanc C, Mathez D, Tubiana R et al. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science* 1997; 277(5322): 112-116.
  20. Havlir DV, Schrier RD, Torriani FJ, Chervenak K, Hwang JY, Boom WH. Effect of potent antiretroviral therapy on immune responses to *Mycobacterium avium* in human immunodeficiency virus-infected subjects. *J Infect Dis* 2000; 182(6): 1658-1663.
  21. Bourgarit A, Carcelain G, Martinez V, Lascoux C, Delcey V, Gicquel B et al. Explosion of tuberculin-specific Th1-responses induces immune restoration syndrome in tuberculosis and HIV co-infected patients. *Aids* 2006; 20(2): F1-7.

**Endereço para correspondência:****REGINA CÉLIA DE SOUZA CAMPOS FERNANDES**

Rua Rafael Danuncio Damiano 277,

Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

CEP 28013-035

Tel/fax: +55 22 2726-6758;

E-mail: reg.fernandes@bol.com.br

Recebido em: 02/12/2008

Aprovado em: 09/02/2009