

HPV IN RIO 2015

EQUIDADE – PROMOÇÃO DA SAÚDE

VI SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PAPILOMAVIROSE HUMANA

RIO DE JANEIRO, 7, 8 E 9 DE AGOSTO DE 2015

WINDSOR FLÓRIDA HOTEL

Organização: Setor de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) da Universidade Federal Fluminense (UFF) e Associação de DST do Rio de Janeiro (Regional RJ da SBDST)

Coordenação Geral: Mauro Romero Leal Passos

www.hpvinrio.com.br

RESUMOS DE TRABALHOS APRESENTADOS

ABSTRACTS OF PRESENTED PAPERS

DIVERSIDADE GENÉTICA INTRATIPO DE HPV35, HPV45 E HPV58 NOS ESTADOS DO RIO DE JANEIRO E PARÁ

DIOGO LISBÔA BASTO¹, JOÃO PAULO VIDAL², VALÉRIA BARBOSA PONTES³, SHAYANY PINTO FELIX⁴, LAINE CELESTINO PINTO⁵, LUIS FELIPE MARTINS⁶, FLÁVIA MIRANDA CORREIA⁷, RAQUEL CARVALHO MONTENEGRO⁸, LIZ MARIA ALMEIDA⁹, MIGUEL ÂNGELO MARTINS MOREIRA¹⁰

¹Graduado pela Universidade Estácio de Sá; Programa de Genética, Instituto Nacional de Câncer (INCA) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

²Doutor pelo INCA – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

³Doutorando na Universidade Federal do Pará (UFPA) – Pará (PA), Brasil.

⁴Mestre pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF); Programa de Genética, INCA – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁵Doutorando na UFPA – Pará (PA), Brasil.

⁶Doutor pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ); Coordenação de Pesquisa Populacional, INCA – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁷Doutor pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Coordenação de Pesquisa Populacional, Instituto Nacional de Câncer (INCA) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁸Doutor pela Universidade Federal do Ceará (UFC); Instituto de Ciências Biológicas, UFPA – Pará (PA), Brasil.

⁹Doutor em Ciências pela Universidade de São Paulo (USP); Coordenação de Pesquisa Populacional, INCA – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

¹⁰Doutor pela UFRJ; Programa de Genética, INCA – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

Introdução: O câncer cervical é o quarto câncer mais comum em mulheres no mundo (528 mil novos casos/ano e 266 mil mortes) e o papilomavírus humano (HPV) desempenha um papel fundamental estando presente em mais de 95% dos casos. Mais de 200 tipos de HPV foram descritos, e 15 tipos são considerados de alto risco carcinogênico. Estudos sugerem que as variantes intratipo podem diferir biologicamente no desenvolvimento e comportamento do tumor, mas a maioria dos estudos analisa linhagens dos tipos mais prevalentes: HPV16 e 18. Dados acerca de outros tipos de alto risco, que não 16 e 18, são raros e inconsistentes. **Objetivo:** Analisar a diversidade genética intratipo dos HPV dos tipos 35, 45 e 58 em cânceres cervicais, e as prevalências das variantes em pacientes dos estados do Rio de Janeiro e Pará. **Metodologia:** Foram incluídas biopsias de 73 mulheres com câncer de colo de útero matriculadas no Instituto Nacional de Câncer (n=49, no estado do Rio de Janeiro) e no Hospital Ophir Loyola (n=24, no estado do Pará) cujos apresentavam HPV35 (n=21), HPV45 (n=40) e HPV58 (n=12). As amostras foram submetidas à reação de PCR e sequenciamento para as regiões LCR, E6 e E7 do DNA viral. Para a identificação das variantes, uma árvore de máxima verossimilhança foi construída usando o software *PhyML* utilizando como referência sequências descritas na literatura para as linhagens de cada tipo. As análises de Medianjoining foram feitas utilizando o software Network e para as análises populacionais o Alerquin. **Resultados:** Para HPV35 foram identificados 11 haplótipos, 17 pacientes com a linhagem A1 e quatro pacientes com A2, a linhagem A1 foi a mais frequente em ambos os estados. Para HPV45 foram identificadas 27 haplótipos, 11 pacientes com a linhagem A1, três com A2, um com A3, quatro com B1 e 21 com B2. Para HPV45 a linhagem mais frequente foi B2 em ambas as regiões estudadas. Para HPV58 foram encontrados nove haplótipos, sendo identificadas oito

pacientes com a linhagem A2, dois com A3 e dois com C, a linhagem A2 foi a mais frequente em ambas as regiões estudadas. A população de HPV35 do Rio de Janeiro tem uma maior diversidade gênica e nucleotídica se comparada com a população do Pará. HPV35, por outro lado, possui diversidades gênica e nucleotídica menores se comparado com os outros tipos de HPV. Nas populações estudadas foi observada a presença de haplótipos exclusivos para cada região, mas não houve uma estruturação geográfica em nenhum dos tipos de HPV estudados. **Conclusão:** Os resultados evidenciam que para cada tipo de HPV há uma linhagem que se encontra mais frequente em ambos os estados estudados, o que indica que a prevalência de algumas linhagens são mais recorrentes do que outras. A diversidade gênica intra-tipo entre ambas as populações se mostrou praticamente a mesma para todos os tipos com exceção de HPV35 que apresentou uma diversidade gênica diferente entre as duas populações.

Palavras-chave: Papillomavirus Humano; HPV35; HPV45; HPV58; linhagens; haplotipos.

CONDILOMATOSE NA INFÂNCIA

BRUNA OBEICA VASCONCELLOS¹, DANIELA DA SILVA ALVES MONTEIRO², MARIANNE CECÍLIA C. SOARES³, SUSANA CRISTINA AIDÉ VIVIANI FIALHO³, ISABEL CRISTINA CHUVIS DO VAL³, RENATO DE SOUZA BRAVO⁴

¹Pós-Graduada do Serviço de Tocoginecologia da Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói (RJ), Brasil.

²Residente do Serviço de Tocoginecologia da UFF – Niterói (RJ), Brasil.

³Professora Adjunta de Ginecologia da UFF – Niterói (RJ), Brasil.

⁴Professor Associado de Ginecologia da UFF – Niterói (RJ), Brasil.

Introdução: O papilomavírus humano (HPV) usualmente é identificado por meio da sua forma de manifestação clínica, o condiloma acuminado. Sua localização pode estar em todo o trato genital inferior, além da uretra, região perianal e anal. Em pacientes pediátricos deve ser sempre investigado uma possível história de abuso sexual, caso a história da doença atual não evidencie a origem do condiloma. No entanto, outros meios de transmissão viral podem ser responsáveis pela maioria dos casos pediátricos. Os meios potenciais para a aquisição do HPV em crianças são descritas como: a heteroinoculação definida por transmissão de HPV durante o contato não sexual com um cuidador ao tomar banho ou na troca de fraldas, por exemplo; a autoinoculação onde as crianças adquirem as lesões anogenitais de outros sítios cutâneo-mucosas delas próprias e a infecção por HPV em recém nascidos durante o parto vaginal pelo contato do trato genital materno infectado. Em adição, DNA de HPV foi detectada em líquido amniótico, no sangue do cordão umbilical, sugerindo que a ascensão da infecção no útero e disseminação hemática do vírus podem ser vias de transmissão do HPV pré-natal. Estimativas da proporção de crianças com condiloma acuminado que foram abusadas sexualmente variam amplamente, de <10 a 90 %. Uma vez diagnosticado, pode optar-se pelo uso do imiquimode como forma de tratamento. **Objetivo:** O objetivo deste relato foi demonstrar a eficácia e segurança do uso de imiquimode na infância. **Descrição do caso:** B. I. S. J., 1 ano e 8 meses, branca, nascida de parto cesáreo. Encaminhada ao serviço de Patologia Vulvar do Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP) em março de 2015 devido a lesões verrucosas em genitália notadas pela avó, com evolução progressiva de seu tamanho nos últimos quatro meses. Há relatos de tratamento de verruga vulvar materna durante a gestação. Ao exame, apresentava lesão condilomatosa, de aproximadamente 4 cm,

abrangendo parte inferior do monte de vênus, se estendendo aos grandes lábios em seus terços superiores. Foi prescrito imiquimode por um mês, em dias alternados. Na revisão de trinta dias, foi observada regressão de 90% da lesão em monte de vênus e grandes lábios, apresentando ainda lesão de aproximadamente 0,5 cm em comissura anterior dos grandes lábios e eritema reacional no local da aplicação. **Resultados:** Houve melhora do quadro, com remissão das lesões apenas pelo uso de imiquimode. Avalia-se, então, que esse método é uma ótima opção para pacientes na faixa pediátrica, por ser seguro, não invasivo e indolor. **Conclusão:** O uso do imiquimode para tratamento de verrugas genitais e perianais tem se mostrado eficiente. Sua administração na infância é segura e orientada por diversos estudos na literatura médica, porém ainda há uma limitação nos dados sobre sua segurança e eficácia em crianças abaixo de doze anos. O regime de tratamento indicado é de aplicação três vezes na semana, de um a quatro meses. Normalmente é bem tolerado pelas crianças. Seu efeito colateral mais comum é a irritação da pele no local da aplicação.

Palavras-chave: Papilomavírus humano; condiloma acuminado; vulva; criança; terapia.

INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS E A SURDEZ: PRODUÇÃO DE MATERIAL DIDÁTICO PARA ABORDAGEM DE TEMAS DE IMPORTÂNCIA PARA A SAÚDE DA MULHER

THAYS MERÇON¹, JOSÉ AUGUSTO DA COSTA NERY², DILVANI OLIVEIRA SANTOS³

¹Doutoranda em Ensino em Biociências e Saúde do Instituto Oswaldo Cruz (PGEBS/IOC/Fiocruz); Membro do Núcleo de Desenvolvimento de Produtos e Processos Inclusivos na Perspectiva da Surdez, Universidade Federal Fluminense (NDPIS/UFF) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

²Doutor em Medicina pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ); Professor de Dermatologia da Universidade Estácio de Sá e do Instituto de Dermatologia Prof. Rubem David Azulay da Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro (SCMRJ) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

³Doutora em Ciências Biológicas pela UFRJ; Professora Titular da UFF – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

Introdução: Atualmente, a sexualidade é apresentada de maneira heterogênea na literatura; e vivenciada desde a infância, é uma busca pelo prazer e pode estar relacionada ou não com os órgãos sexuais. A sexualidade é diretamente ligada a aspectos culturais e é um componente das relações pessoais. Neste contexto, a comunidade surda é diretamente afetada pela sua característica bilíngüística estabelecida por lei, na qual sua primeira língua, a Língua Brasileira de Sinais (LIBRAS), não é assegurada pelos órgãos do governo para divulgação de questões importantes quanto à saúde da mulher. **Objetivo:** Desenvolver material informativo/comunicativo em português e LIBRAS abordando a sexualidade feminina, suas características e relação com infecções sexualmente transmissíveis (ISTs), focando HIV, HPV e Sífilis por serem ISTs pertencentes ao grupo de maior incidência de acordo com o Ministério da Saúde. **Métodos:** Os sinais referentes ao tema de escolha na LIBRAS foram localizados no Dicionário Acessibilidade Brasil em formato multimídia e no Dicionário Enciclopédico Ilustrado Trilíngue da Língua de Sinais Brasileira (LIBRAS), editado por Fernando César Capovilla e Walkiria Duarte Raphael. **Resultados:** Realizamos uma busca sobre os três sinais: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), Condiloma Acuminado (HPV) e Sífilis. Neste trabalho, foram identificados dois sinais, AIDS presente nas duas fontes de busca e Sífilis presente apenas no Dicionário Enciclopédico Ilustrado Trilíngue da Língua de Sinais Brasileira (LIBRAS), editado por Fernando César Capovilla e Walkiria Duarte Raphael. **Conclusão:** O produto final será o desenvolvimento do site Infecções Sexualmente Transmissíveis e Surdez pela Universidade Federal Fluminense (UFF) em parceria com a Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro (SCMRJ). O avanço tecnológico para a sociedade e indivíduos de modo geral exerce uma função importante na vida dos cidadãos brasileiros, pois com o uso da internet as informações são transmitidas e recebidas em tempo real e a nível mundial, em diversas línguas, inclusive nas línguas de sinais. Promover o acesso à informação é proporcionar educação, cultura e experiência bases imprescindíveis para o desenvolvimento de um cidadão pleno na sociedade.

Palavras-chave: doenças sexualmente transmissíveis; ensino; saúde da mulher; surdez.

ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA DE CÉLULAS CD45RA⁺ E CD45RO⁺ EM NEOPLASIAS INTRAEPITELIAIS CERVICAIS DE ALTO GRAU

MARIA ODETE DE OLIVEIRA CARVALHO¹, ELYZABETH AVVAD PORTARF², FABIO BASTOS RUSSOMANO³, ANA TERESA GOMES FERNANDES⁴, MARIA DA GLÓRIA BONECINI DE ALMEIDA⁵

¹Doutoranda em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

²Doutora em Fisiopatologia Clínica e Experimental pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

³Doutorado pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁴Doutora em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas pela Fiocruz – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁵Doutora em Biologia Celular e Molecular pela Fiocruz – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

Introdução: A infecção viral pelo papilomavírus humano (HPV) é a patologia sexualmente transmissível mais prevalente na população jovem do sexo feminino. O fator primordial

para o desenvolvimento de neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC) é a infecção por tipos de HPV considerados de alto risco para progressão maligna. A maioria destas infecções ocorre de modo transitório, e são em geral assintomáticas. A persistência viral é necessária para o desenvolvimento e a progressão de lesões precursoras de câncer de colo uterino. A resposta imunológica participa ativamente no controle da infecção pelo HPV e na sua evolução para a malignidade. Linfócitos intratumorais são claramente identificados nas lesões cervicais e têm papel importante na carcinogênese. **Objetivo:** A presente pesquisa teve como objetivo principal avaliar a ativação de linfócitos T nas lesões de colo uterino com diagnóstico de alto grau para evolução carcinogênica (HSIL). **Métodos:** Foram incluídas 12 mulheres com HSIL, e as amostras cervicais foram obtidas após confirmação diagnóstica por histopatologia. Reação de imunohistoquímica utilizando anticorpos anti-CD45RA (célula naive) e anti-CD45RO (célula ativada) foi realizada. As células positivas foram detectadas nas camadas epitelial, subepitelial, córion e perivasculares. **Resultados:** Na camada epitelial, foco da replicação viral, foi encontrada uma frequência maior de células T ativadas (CD45RO⁺, 7,7±1,62 células/mm²) do que células naive (CD45RA⁺, 3,38±3,36 células/mm²), demonstrando um perfil inflamatório ativo nas lesões. O mesmo perfil foi observado no subepitélio (2,06±2,04 e 4,2±2,61 células/mm²), córion (7,43±9,28 e 19,07±15,13 células/mm²) e região perivasculares (2,86±4,00 e 10,39±15,79 células/mm²), demonstrando a migração recente destas células. **Conclusões:** A migração de linfócitos para os locais de infecção pelo HPV é importante para induzir um ambiente inflamatório e eliminar as células infectadas pelo HPV. Outros estudos são necessários para avaliar o envolvimento destas células no controle das lesões precursoras de câncer no colo uterino e a evolução da carcinogênese.

Palavras-chave: HPV; imunohistoquímica; CD45RA; CD45RO.

Suporte financeiro: Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) e Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

PERFIL IMUNE REGULATÓRIO “IN SITU” EM LESÕES ANAIS DE PACIENTES CO-INFECTADOS PELO HPV/HIV-1

PREMIADO O MELHOR TRABALHO PÔSTER

NATHÁLIA SILVA OLIVEIRA¹, CECÍLIA VIANNA ANDRADE², BEATRIZ GRINSZTEJN³, LUIZA PEREIRA OLIVEIRA⁴, SÉRGIO MENEZES AMARO FILHO⁵, MIGUEL ANGELO⁶, RUTH KHALILI FRIEDMAN⁷, CYNTHIA CUNHA⁸, DENNIS DE CARVALHO FERREIRA⁹, DIANA DA SILVA¹⁰, MARTIN W KAST¹⁰, ALCINA F NICOL¹¹

¹Mestre em Biologia Celular e Molecular pelo Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas; Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

²Doutora em Patologia pela Universidade Federal Fluminense; Patologista no Instituto Fernandes Figueira, Fiocruz – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

³Doutora em Medicina pela Universidade Federal Fluminense (UFF); Pesquisadora no Instituto Nacional de Infectologia (INI); Fiocruz – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁴Doutora em Química Biológica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro/UFRJ; Pesquisadora no Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas; IOC/Fiocruz – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁵Doutorando no Instituto Nacional do Câncer (INCA) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁶Doutor em Genética pela UFRJ; Pesquisador no INCA – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁷Doutora em Epidemiologia Geral pela Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP); Médica Infectologista do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁸Estatística no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁹Doutor em Microbiologia pela UFRJ – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

¹⁰Doutor(a) pela University of Southern California – Los Angeles, USA.

¹¹Doutora em Biologia Celular e Molecular pela Fiocruz – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

O papilomavírus humano (HPV) é o principal agente etiológico do câncer do trato anogenital. Maiores prevalência e incidência de desenvolvimento do carcinoma e doenças associadas ao HPV têm sido observadas em indivíduos infectados pelo HIV. A história natural da infecção pelo HPV ainda não está totalmente elucidada, assim como a resposta imune na coinfecção pelo HIV/HPV, principalmente na Neoplasia Intraepitelial Anal (NIA). **Objetivo:** Analisar a resposta imune “in situ” em biópsias de indivíduos infectados pelo HIV em acompanhamento no Instituto Nacional de Infectologia da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz). **Materiais e Métodos:** Ao todo, 114 biópsias foram analisadas utilizando o Tissue Micro-Array, sendo 15 de indivíduos não infectados pelo HIV, todos sem lesão, e 99 de indivíduos infectados pelo HIV: 21 sem lesão, 39 com NIA1, e 39 com NIA2/3. Foram realizados PCR e sequenciamento para genotipagem do HPV e imunohistoquímica para análise dos marcadores imunes CD4, CD8, Foxp3, T-bet, IL-10 e SLPI. A análise estatística foi feita no software SPSS 15.0 aplicando os testes: Kruskal-Wallis, Teste χ^2 e Teste Exato de Fisher. **Resultados:** Pacientes infectados pelo HIV com NIA2/3 apresentaram CD4+ nadir <50 cél/mm³ comparados aos pacientes normais (p=0,01). Quanto aos marcadores imunes, indivíduos infectados pelo HIV apresentaram maior expressão de Foxp3 e IL-10 de acordo com a gravidade da lesão (p=0,002). Foi observado coeficiente de correlação positiva entre FoxP3 e IL-10 (r=0,34; p=0,027). Ao todo, 93,4% (101/107) das amostras apresentaram DNA de HPV, sendo os tipos mais prevalentes: HPV 16 (26,9%), HPV 6 (15,7%), HPV

59 (13%) e HPV 18 (10,2%). Amostras de indivíduos com HPV de alto risco oncogênico foram negativas para SLPI, bem como houve menor expressão em amostras com NIA2/3 comparadas ao grupo sem lesão de indivíduos infectados pelo HIV, mostrando correlação inversa com o tipo de HPV e grau de lesão. **Conclusão:** Os resultados do presente estudo sugerem que indivíduos infectados pelo HIV apresentem maior risco de desenvolverem o câncer anal, devido à alta prevalência do HPV 16 e o aumento de IL-10 (Th2) e Foxp3 (T-reg), o qual evidenciam perfil de resposta imune regulatória, enfatizada pela diminuição de células T-bet (Th1), nestas lesões de alto grau. A maioria dos indivíduos infectados pelo HIV já foram expostos aos quatro tipos de HPV da atual vacina quadrivalente, sugerindo que a vacinação contra o HPV deve ser considerada como medida profilática para reduzir o risco de desenvolvimento de lesões intraepiteliais anais nos indivíduos infectados pelo HIV. Nosso estudo parece ser o primeiro a descrever a proteína SLPI como possível biomarcador em amostras de lesões anais, e a descrever o fator de transcrição T-bet em lesões anais.

Palavras-chave: HPV; HIV-1; ânus; neoplasias; imunologia.

Suporte financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/Ciências sem Fronteiras (CNPq-CSF); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ -APQ1); Laboratório Interdisciplinar de Pesquisas Médicas do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (LIPMED/IOC/Fiocruz); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

ANÁLISE DAS SEQUÊNCIAS DE NUCLEOTÍDEOS DO ORF L1 DO PAPILOMAVÍRUS DE ESPÉCIES ANIMAIS COMPARADA COM AS SEQUÊNCIAS DE HPV DEPOSITADAS NO GEN BANK

PREMIADO MENÇÃO HONROSA PÔSTER

RACHEL SIQUEIRA DE QUEIROZ SIMÕES¹, ORTRUD MONIKA BARTH²

¹Pós-doutorado pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

²Chefe do Laboratório de Morfologia e Morfogênese Viral, IOC/Fiocruz – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

O genoma do papilomavírus é constituído por uma molécula de DNA circular de fita dupla, não segmentada, com aproximadamente 8kbp e infecta um amplo espectro de hospedeiros. Diversas técnicas da biologia molecular têm sido ultimamente empregadas na detecção do papilomavírus humano (HPV). O objetivo do presente estudo foi analisar a homologia das sequências de nucleotídeos do ORF L1 de diversas espécies animais comparadas com as sequências de HPV depositadas no *Gen Bank*. Os procedimentos de coleta seguiram as normas das unidades de pesquisa local de acordo com cada espécie analisada. O DNA das amostras de sangue e biópsias foi extraído utilizando o QIAamp DNA *bloodminikit* (QIAGEN). Amostras das espécies *Bostaurus*, *Canis familiaris*, *Felis concolor*, *Panthera onca* e *Struthio camelus* apresentaram sequências de DNA do papilomavírus, utilizando o par de oligonucleotídeos degenerados FAP59 (senso: 5' - TTACWGTIGGICAYCCWTATT - 3') /FAP64 (antissenso: 5' - CCWATATCWVHCATITCICCATC - 3') para amplificação do ORF L1 em ensaios de PCR. Todas as amostras foram testadas para o gene β -globina (senso: 5' - AACCTCTTGTTCACAACCAG - 3') / (antissenso: 5' - CAGATGCTTAACCCACTGAGC - 3'). Para a reação de sequenciamento, foram utilizados 5 μ L do produto de PCR purificado utilizando o GFX PCR DNA *Purification Kit* (GEHealthcare). Posteriormente 2 μ L do produto de PCR purificado foram quantificados. As sequências foram analisadas pelo *Sequence Analyst* utilizando o *Base Caller Cimaroon3*.¹² A qualidade das sequências obtidas foi avaliada pelo programa *Chromas* versão 2.33 e/ou pelo *Biological Sequence Alignment Editor* (BioEdit). As identidades dos produtos foram pesquisadas utilizando-se o programa *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) para comparação com as sequências depositadas no *Gen Bank*. Pela análise da sequência de nucleotídeos do ORF L1, foi possível demonstrar que o genoma das diferentes espécies animais se encontra estritamente relacionado com os genótipos de HPV-5, 7, 8, 12, 14, 28, 36, 40, 47, 74, 82, 84, 97 e 107 em diferentes posições nucleotídicas. *Bostaurus*: Por meio da amostra de papiloma bovino amplificada pela análise de PCR (RMA 28), foram encontrados 100% de similaridade com o papilomavírus HPV-97 isolado W15189 (Acesso: EF202168.1 - nt:215-228 e 6529-6516), com o genoma completo HPV-97 isolado 624 (Acesso: EF436229.1 - nt:215-228 e 6529-6516) e com HPV-97 (Acesso: DQ080080.1 - nt:215-228 e 6529-6516). A sequência de nucleotídeos da mesma amostra também revelou 90% de similaridade genética com o gene parcial E1 do HPV-7 isolado alb (Acesso: AF322243.1 - nt:151-170 e 32-12). *Canis familiaris*: Foram encontrados 91% de similaridade pelo alinhamento da sequência dos nucleotídeos do ORF L1 da amostra RMA 75 de canino com o gene L1 do HPV-14 (Acesso: AF054874.1 - nt:224-245 e 23-45). Foi possível detectar pelo alinhamento das sequências dos nucleotídeos da amostra RMA 78 100% de similaridade nas posições nucleotídicas (nt:639-655 e 394-410) do genparcial L1 do HPV clone vs75-3 (Acesso: X79945.1), assim como 100% de alinhamento nas posições nucleotídicas (nt:642-656 e 133-147) do gene L1 do capsídeo viral do HPV clone vs203-2 (Acesso: X89880.1). Pela análise da sequência de nucleotídeos da amostra de canino RMA 95, foi possível verificar 100% de homologia com o genoma completo do HPV-5 (Acesso: M17463.1); HPV-8 (Acesso:

M12737.1); HPV12 (Acesso: X74466.1); HPV-36 (Acesso: U31785.1); HPV-47 (Acesso: M32305.1). Por meio da amostra RMA 96, foram encontrados 94% de similaridade com o DNA genômico do HPV-40 (X74478.1). A amostra analisada também apresentou estreita relação com o genoma completo do HPV-82 (Acesso: AB027021.1), demonstrando 100% de alinhamento (nt:161-175 e 971-985). A amostra RMA 97 apresentou 94% de similaridade com o genoma completo do HPV-28 (Acesso: U31783.1) e 85% com o genoma completo do HPV-74, subtipo AE10 (Acesso: AF436130.1). Pelos alinhamentos dos nucleotídeos a partir da lesão adenocarcinomatosa (amostra RMA98), foram identificados 90% de homologia com o genoma completo do HPV-8 (Acesso: M12737.1), 88% com HPV-40 (Acesso: X74478.1) e 86% com o HPV-31 (Acesso: EF422120.1). *Felis concolor*: Foram encontrados, nas posições dos nucleotídeos (nt: 346-365 e 346-363) da amostra RMA 47 do felino selvagem suçuarana, 90% e 94% de similaridade com a sequência do genoma completo HPV-84 (Acesso: AF293960.1) e do HPV-87 (Acesso: AJ400628.2), respectivamente. *Panthera onca*: Através da amostra RMA 46da onçapintada, foi possível identificar 100% de similaridade com o HPV-7 (Acesso: X74476.1 - nt: 848-863 e nt:2319-2274), um tipo viral de verruga comum cutaneotrópico. *Struthio camelus*: A amostra RMA 42 do avestruz apresentou 100% de similaridade na posição nucleotídica (nt:64-81 e 3623-3640), com o genoma completo do HPV-74, subtipo AE10 (Acesso: AF436130.1). Por meio do alinhamento das sequências de nucleotídeos da amostra RMA 43, foram encontradas 81% de homologia com o DNA genômico do HPV-34 (Acesso: X74476.1) e 94% com o HPV-107 (Acesso: EF422221.1). Assim, dada tamanha diversidade na família *Papillomaviridae*, foi possível demonstrar através da similaridade entre as sequências que compartilham a mesma ancestralidade a proximidade filogenética entre os hospedeiros investigados, estritamente relacionados com os diversos genótipos de HPV em diferentes posições nucleotídicas.

Palavras-chave: alinhamento de sequência; homologia de genes; papillomaviridae; reação em cadeia da polimerase.

DIVERSITY OF METHYLATION PATTERNS IN 3'LCR OF HPV16, HPV18, HPV35 AND HPV45 IN CERVICAL CANCER BIOPSIES

SÉRGIO MENEZES AMARO-FILHO¹, JOÃO PAULO VIDAL², SHAYANY PINTO FELIX³, AYSLAN CASTRO BRANT⁴, SILVIA MARIA BAETA CAVALCANTI⁵, FERNANDA CARESTIATO⁴, CIBELE RODRIGUES BONVICINO⁵, CLÁUDIA CHAVES⁵, LIZ MARIA ALMEIDA⁵, MIGUEL ANGELO MARITINS MOREIRA²

¹Doutorando pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

²Doutor(a) pelo INCA – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

³Técnica pelo INCA – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

⁴Doutora pela Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói (RJ), Brasil.

⁵Médica, Doutora pelo INCA – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

Introduction: In cervical cancer (CC) has been suggested that viral integration is an essential event during malignant transformation due to the loss of E2 repressive functions over E6 and E7 oncogenes. However, in up to 40% of cases showed presence of HPV DNA in an episomal form. On these cases HPV DNA methylation would play a fundamental role by deregulating E6/E7 during oncogenesis. The characterizing and understanding of these mechanisms will allow answering questions such as why only few HPV infections can lead to cancer. **Objective:** To describe the methylation pattern of CpG sites of promoter regions, 3' LCR, of HPV16, HPV18, HPV35, HPV45 and HPV16 co-infected with others HPV types, associating with tumor characteristics, HPV genetic diversity and the viral DNA physical state. **Methodology:** Samples analyzed were obtained from biopsies of patients attended at INCA ambulatory and diagnosed with invasive CC. By means of bisulfite treatment followed by PCR and pyrosequencing, CpGs of 3' LCR were analyzed for methylation presence in 103 samples infected with HPV16 (n=35), HPV18 (n=37), HPV35 (n=06), HPV45 (n=14) and co-infections (n=11). CASKI and HeLa lineage were used as methylation control. PCR combining 21 pairs of primers was performed to assess disruption status of E1 and E2 genes for HPV16 and HPV18. **Results:** The 3' LCR segment of HPV16 showed increased level of average methylation (12%), mainly in co-infections (17%) when compared to the others HPV types (6% for HPV18, 5% for HPV35 and 5% for HPV45). Adenocarcinoma tumors infected with HPV16 were more methylated (24%) than squamous cell carcinoma ones (6%), however, this difference was not significant (p=0.126). On the same way, European variants of HPV16 were more methylated (27%) when comparing with non-European ones (8%), but the difference was not significant (p=0.245). Moreover, average methylation at 3' LCR of HPV16 was positively associated with patient age (r=0.437; p=0.008). Regarding the HPV DNA physical state, disruptions in E1 and/or E2 were more frequent in tumors with HPV18 than in HPV16 positives (p=0.005). For HPV16 and HPV18 the disruption of E1/E2 was associated to a low level of average methylation (3 versus 22% for HPV16, p=0.004; and 4 versus 13% for HPV18, p=0.023). **Conclusion:** It was observed a higher average methylation for HPV16 (in single and co-infections) in comparison with HPV18, HPV35 and HPV45. For HPV16

and HPV18, was found differences in methylation level between viruses with intact and disrupted E1/E2, and between intratype variants of HPV16, a finding not observed for tumors associated to HPV18.

Keywords: Papillomavirus Human; DNA methylation; Cervix Uteri.

Financial support: This work was supported by Conselho Nacional para Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), and Instituto Nacional de Câncer/Ministério da Saúde (INCA/MS), INCT para Controle do Câncer, Organização Pan Americana de Saúde (OPAS).

INFECÇÃO PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO CONCOMITANTE À PSORÍASE

MARSELLECODEÇOBARRETO¹, GABRIELA ALMEIDA GIRALDELLI¹, MANUELA MACHADO DO AMARAL¹, ÉRICA BERTOLACE SLAIBF¹, JOSÉ AUGUSTO DA COSTA NERY²

¹Acadêmicas de Medicina e Membros da Liga Acadêmica de DST/Hanseníase do Setor de Dermatologia Sanitária do Instituto de Dermatologia Prof. Rubem David Azulay da Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro (IDPRDA/SCMRJ) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

²Médica Pós-Graduada em Dermatologia pelo IDPRDA/SCMRJ e Escola Médica de Pós-Graduação da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-RJ) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

³Chefe do Setor de Dermatologia Sanitária do IDPRDA/SCMRJ; Pesquisador Associado do Departamento de Micobacterioses/Laboratório de Hanseníase do Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

Introdução: O papilomavírus humano (HPV) é um vírus DNA do grupo papovírus com tropismo por células epiteliais, causando infecções na pele e nas mucosas. A replicação do HPV ocorre no núcleo das células escamosas e o seu ciclo de vida é diretamente relacionado ao programa de diferenciação da célula hospedeira. Além de ser o responsável por lesões verrucosas benignas de pele e mucosas, também está envolvido no desenvolvimento de diversos tumores cutaneomucosos. Já a psoríase é uma doença inflamatória crônica, caracterizada por hiperproliferação da epiderme, de origem multifatorial com interação de condições genéticas e respostas imunológicas aos fatores externos, os quais são necessários tanto ao aparecimento quanto à evolução. Sabe-se que há diversos fatores predisponentes, entre eles, as infecções causadas por vírus, incluindo o HPV. Acomete, frequentemente, a face extensora dos membros, o tronco, a região sacra e o couro cabeludo. A forma de psoríase invertida caracteriza-se por lesões mais úmidas nas áreas de flexura (como região axilar, inguinal, inframamária e perigenital), sendo mais comum nos indivíduos infectados pelo HIV e melanodérmicos. Na psoríase há um ciclo evolutivo acelerado dos queratinócitos e ativação imune inapropriada. O HPV penetra no epitélio a partir das células basais e parabasais, provocando uma mutação genética e predispondo ao desenvolvimento da psoríase. Além disso, o envolvimento do HPV na patogênese da psoríase é ainda incerto, sendo postulado que o vírus pode agir como um superantígeno ou é ativado a partir de um estado latente por citocinas inflamatórias. Há a hipótese que a replicação do HPV nos queratinócitos/psoriáticos pode causar a hiperproliferação epidérmica, bem como a estimulação pelo antígeno, que induz a fenômenos autoimunes. **Objetivo:** Relatar o caso de infecção pelo HPV na região previamente acometida pela psoríase, em um paciente imunocompetente.

Relato de caso: Paciente do sexo masculino, 38 anos de idade, pardo, procedente do Rio de Janeiro, procurou o ambulatório relatando a presença de lesões verrucosas hipertróficas na região inguinal bilateral, perineo e região testicular há um ano. Referiu discreto prurido local. Negou tratamentos prévios. Informou ter o diagnóstico prévio de psoríase invertida, sendo tratado com acitretina 30 mg/dia e fototerapia. Foi submetido à cirurgia de hérnia inguinal anteriormente. Ao exame físico, foi evidenciada lesão acastanhada verrucosa, com arranjo linear, bilateral, sobre uma base eritematodescematosa na região do perineo. Presença também de placas eritematovioláceas, com descamação prateada aderente no tronco, região genital e membros. Foram solicitados exames, nos quais as sorologias VDRL e anti-HIV 1 e 2 foram não reagentes. Foi realizada biópsia da lesão cutânea do perineo e os achados foram de hiperplasia epitelial verrucosa compatível com etiologia viral (HPV). O paciente iniciou tratamento com aplicação quinzenal de ácido tricloroacético (ATA) a 90% nas lesões de HPV, associado, posteriormente, ao uso de imiquimode 5% creme 3x/semana. Evoluiu com melhora completa do quadro cutâneo relacionado ao HPV. Após três meses, em seu acompanhamento, apresentou novas lesões cutâneas verrucosas na região genital, em área diferente da acometida previamente, porém também na área de psoríase invertida. Foi reiniciada aplicação quinzenal de ATA a 90% e o paciente apresentou melhora significativa do quadro.

Discussão: O envolvimento do HPV com a psoríase é incerto e o vírus pode agir como um superantígeno ou é ativado a partir de um estado latente por citocinas inflamatórias. Além disso, a fototerapia pode ser um fator subjacente que predispõe os pacientes com psoríase

à infecção por HPV, devido à imunossupressão induzida nesses casos. O surgimento de novas lesões de HPV em área diferente da acometida pelo vírus previamente, porém em topografia acometida pela psoríase, reforça essa tese. **Conclusão:** O paciente relatado apresentou infecção pelo HPV na área previamente acometida por psoríase (forma invertida) e evoluiu com satisfatória resposta terapêutica combinada com aplicação de ATA e uso de imiquimode nos dois momentos. Permanece em tratamento para a psoríase com acitretina e fototerapia. A relevância do caso descrito se dá pela raridade da associação de uma doença imunoinflamatória, a psoríase, com outra infecciosa (viral) em uma mesma topografia.

Palavras-chave: condiloma acuminado; papilomaviridae; psoríase.

AVALIAÇÃO DA CARGA VIRAL DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO DE ALTO RISCO DETECTADA PELO TESTE DE CAPTURA HÍBRIDA 2 (CH2) NO RASTREIO DO CÂNCER DO COLO DO ÚTERO EM PACIENTES ATENDIDAS PELO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)

SANDRA LORENTE¹, NATÁLIA COELHO COUTO DE AZEVEDO FERNANDES², RODRIGO ALBERGARIA RÉSSIO³, SONIA MARIA PEREIRA DE OLIVEIRA³, DANIELA ETLINGER-COLONELLI⁴, CLAUDIO ROBERTO MEINESZ⁵, ROSANGELA PLATERO DE MIRANDA⁶, LUZIA SETUKO UMEDA YAMAMOTO², CAMILO DE LELIS FERES⁸, REGINA MARIA CATARINO⁷

¹Mestre pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo (SP), Brasil.

²Mestre pela Faculdade de Medicina da USP – São Paulo (SP), Brasil.

³Biomédica pela Universidade de Santo Amaro (Unisa) – São Paulo (SP), Brasil.

⁴Mestre pela Cordenadoria de Controle de Doenças (CCD) – São Paulo (SP), Brasil.

⁵Médico pela Faculdade de Medicina de Jundiaí (FMJ) – Jundiaí (SP), Brasil.

⁶Enfermeira pela Universidade Federal de São Paulo (Unifesp) – São Paulo (SP), Brasil.

⁷Biólogo pela Universidade do Oeste Paulista (Unoeste) – Presidente Prudente (SP), Brasil.

⁸Doutora pela Unifesp – São Paulo (SP), Brasil.

Introdução: A infecção persistente por um ou mais tipos de papilomavírus humano de alto risco (HPV AR) é o principal fator para o desenvolvimento do câncer do colo do útero. Atualmente, testes biomoleculares para detecção de HPV AR são utilizados como adjunto ao exame de Papanicolaou ou como método independente para rastrear as lesões pré-neoplásicas cérvico-uterinas nos países desenvolvidos. Entretanto, no Brasil, o Ministério da Saúde preconiza apenas a realização de exame de Papanicolaou. **Objetivo:** Avaliar a positividade e a carga viral (CV) do teste de HPV para sua inserção no programa de rastreamento do câncer do colo do útero no Brasil, pelo Sistema Único de Saúde (SUS). **Métodos:** Foram analisadas amostras de 509 pacientes da região do Vale do Ribeira (SP), os exames citopatológicos foram realizados em material colhido em meio líquido Sure Path® e no seu remanescente foi realizado o teste de Captura-híbrida 2 (CH2) para HPV AR. O exame histopatológico foi realizado em 204 pacientes e a colposcopia, em 202. Foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis com significância de 5% para avaliação de CV. Os valores de CV foram comparados entre os casos de cervicite, NIC 1 (e NIC não graduado) e NIC 2+ (NIC 2 e lesões mais graves). A avaliação citopatológica, a CH2, o exame histopatológico e a análise estatística dos resultados foram realizados no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo. O projeto teve financiamento das Políticas Públicas para o SUS/Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (PPSUS/FAPESP) (nº2012/51738-7). **Resultados:** Foram positivos para CH2, dentre os resultados citopatológicos: 23/270 (9%) negativos; 1/8 (13%) AGC; 40/125 (32%) ASC-US; 18/32 (56%) ASC-H; 32/45 (71%) LSIL; 21/28 (75%) HSIL e 1/1 (100%) CEC. Foram positivos para CH2, dentre os diagnósticos histopatológicos: 37/130 (29%) cervicites; 20/34 (64%) NIC 1 e NIC não graduado; 16/18 (89%) NIC 2; 14/17 (82%) NIC 3 e 1/2 (50%) CEC. A sensibilidade da CH2 foi de 91% e o Valor Preditivo Negativo (VPN) de 97%, para a detecção de lesão NIC 2+. O teste de Kruskal-Wallis da distribuição dos resultados de carga viral segundo o resultado citopatológico demonstrou que elevada carga viral nas lesões classificadas no citopatológico como Lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL) e atípicas escamosas de significado indeterminado, não podendo excluir lesão de alto grau (ASC-H) estão associadas ao diagnóstico histopatológico de NIC 2+. **Conclusão:** A CH2 exibiu valores de sensibilidade e VPN desejáveis para uma técnica de rastreamento de lesões NIC 2+. A avaliação da CV em pacientes com resultado citopatológico de LSIL e ASC-H poderá auxiliar no seguimento das pacientes, e desta forma, a indicação de colposcopia em pacientes com LSIL e alta CV para HPV AR poderá contribuir para melhor eficácia da detecção precoce de lesão de alto grau ou carcinoma.

Palavras-chave: HPV; câncer; colo uterino; diagnóstico.