

## INTRODUÇÃO

A persistência da infecção pelo papilomavírus humano (HPV) é uma etapa intermediária na progressão para a neoplasia intraepitelial cervical de alto grau e para o consecutivo câncer invasivo. Acredita-se que o sistema imune, a genética do hospedeiro e do HPV estejam entre os fatores não-comportamentais que determinam a aquisição e a persistência da infecção.

Em função de seu papel na apresentação de antígenos virais, as moléculas do Antígeno Leucocitário Humano (HLA) estão envolvidas na mediação da susceptibilidade das doenças associadas ao HPV. Através da expressão de HLA-C, -E e -G capazes de atuar como ligantes inibitórios de células "natural killers", o vírus consegue estabelecer a infecção evitando a erradicação de células infectadas pelo sistema imune.

O HLA-G é um MHC de classe I não clássico com 50 alelos descritos até agora, 16 produtos protéicos e 2 alelos nulos. Sua expressão inibe a citólise mediada pelas células NK e linfócitos T através de interações com receptores inibidores, além de ser capaz de induzir a apoptose de linfócitos T CD8+, inibir a proliferação de linfócitos T CD4+, inibir a apresentação de antígenos e a diferenciação de células B e induzir a liberação de citocinas Th2<sup>1,2</sup>.

Seu antígeno possui um papel crucial em diversas doenças inflamatórias e auto-imunes como esclerose múltipla, hemorragia intracerebral, asma, doenças gastrointestinais, reumáticas e de pele, onde atua como um imuno-regulador. Também representa um mecanismo de escape do sistema imune em diversas infecções virais (vírus herpes simples tipo I, vírus da raiva, hepatite C, influenza tipo A e HIV-1). Atualmente, tem sido observada uma correlação significativa entre sua expressão e um prognóstico ruim em casos de câncer de pulmão de pequenas células, melanoma, glioblastoma, carcinoma de ovário e neuroblastoma, dentre outros tipos de câncer<sup>2,3,4</sup>.

Devido ao seu potencial em modular a resposta imune contra o HPV, estudos recentes<sup>5,6</sup> vêm investigando polimorfismos neste locus que possam estar associados com a susceptibilidade e a persistência do vírus no hospedeiro.

## OBJETIVOS

Analisar a associação dos alelos do HLA-G com a aquisição e a persistência do HPV em uma população de gestantes HIV+ do Rio de Janeiro. Relacionar os dados da citologia oncológica, genótipos encontrados e fatores de risco demográficos e clínicos com os alelos encontrados. Correlacionar os alelos de HLA-G com a infecção por diferentes tipos, espécies, múltiplas infecções, evolução clínica e persistência da infecção pelo HPV.

## MATERIAL E MÉTODOS

Gestantes HIV+ em acompanhamento no Ambulatório de HIV e Aids do Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira da UFRJ foram convidadas a participar do estudo. As pacientes foram incluídas no estudo no período entre abril de 2009 e maio de 2011 e acompanhadas por um ano. Foram obtidas amostras de escovado cérvico-vaginal de 140 pacientes no início do terceiro trimestre da gestação e um ano após o parto. Além disso, foi preenchido um questionário com dados demográficos e clínicos incluindo: idade da menarca, idade da primeira relação sexual, número de parceiros sexuais, paridade, doenças sexualmente transmissíveis (DST) prévias e tabagismo.

Os dados sobre o status da infecção pelo HPV e a tipagem dos vírus estavam disponíveis para 138 amostras coletadas no primeiro trimestre da gestação, das quais 80% (n=110) eram HPV+. Das 97 amostras coletadas um ano após o parto, 39% (n=38) estavam infectadas pelo vírus. Com isso, puderam ser observados 13 casos de novas infecções e 25 casos de persistência tipo-específica (definida como a manutenção da infecção com o mesmo tipo de HPV nos dois pontos analisados).

Foi definido um subgrupo composto por mulheres com alto risco de exposição ao vírus, definido pela idade da primeira relação sexual igual ou menor que 17 anos, ou que tiveram mais de 5 parceiros sexuais ao longo da vida.

A partir do DNA genômico já extraído, foi amplificado por PCR um fragmento de 1.718 pb do HLA-G compreendendo os exons 2-4. Esses produtos foram então sequenciados no sequenciador automático ABI3130xl e analisados para a definição dos alelos.

Tabela 1: Dados clínicos e epidemiológicos da amostragem estudada.

Dados epidemiológicos	
Mediana Idade (anos)	27
Mediana Menarca (anos)	12
Mediana Idade primeira relação sexual (anos)	15
Alto risco de exposição ao vírus HPV (nº pacientes)	116
Nº de parceiros sexuais ao longo da vida (nº pacientes)	
1 a 3	47
4 ou mais	90
Profissionais do sexo	2
Sem resposta	1
Mediana contagem de linfócitos TCD4 (células/mm <sup>3</sup> )	
No início do primeiro trimestre da gestação	460*
No parto	555,5 <sup>b</sup>
Carga viral HIV indetectável (nº pacientes)	
No início do primeiro trimestre da gestação	32 <sup>b</sup>
No parto	81 <sup>b</sup>
Status HPV+ (nº pacientes HPV+/ nº total analisado)	
No início do primeiro trimestre da gestação	80% (110/138)
Um ano após o parto	39% (38/97)

Dado indisponível para: \*13 gestantes; <sup>b</sup>27 gestantes; <sup>c</sup>10 gestantes; <sup>d</sup>21 gestantes

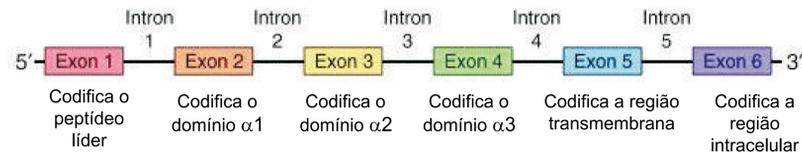


Figura 1: Organização genômica do HLA-G. A região analisada nesse estudo abrange os exons 2, 3 e 4.

## RESULTADOS

Das 140 pacientes, 47 foram identificadas como homozigotas devido à ausência de picos duplos nas análises obtidas por sequenciamento direto. Dessas, 19 já puderam ter seu alelo definido por terem uma sequência de tamanho ideal a análise. As demais deverão ser re-sequenciadas e as amostras heterozigotas deverão ser clonadas para a definição dos alelos presentes.

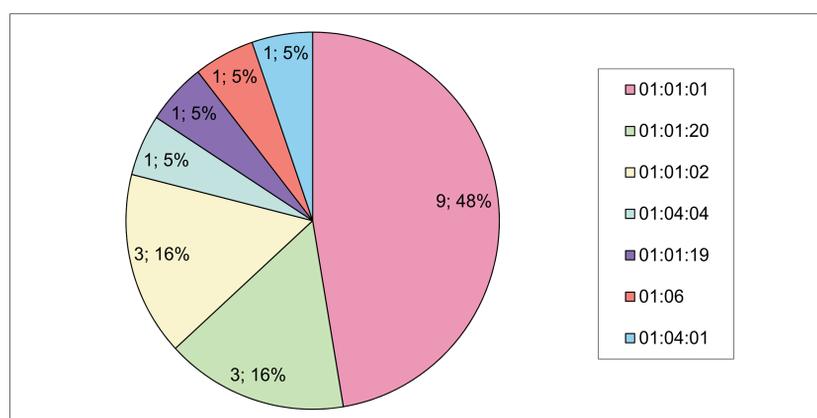


Figura 2: Frequência dos alelos encontrados na população estudada (n=19).

Tabela 2: Correlação entre os alelos HLA-G encontrados e a infecção pelo vírus HPV.

Paciente	Alelo HLA-G	HPV+ durante gestação?	Tipo do HPV (espécie)	HPV+ um ano após o parto?	Tipo(s) HPV (espécie)
15	01:01:20	Sim	18 (7)	Sim	18 (7)
22	01:01:01	Sim	81 (3)	Sim	81 (3)
33	01:01:01	Sim	70 (7)	Sim	70 (7)
58	01:01:02	Sim	73 (11)	Sim	18(7), 52 (9), 73 (11)
94	01:01:01	Sim	81 (3)	Sim	81 (3)
5	01:01:01	Não	X	Não	X
8	01:01:01	Sim	16 (9)	Não	X
23	01:04:04	Sim	73 (11)	Não	X
26	01:01:01	Sim	83 (3)	Não	X
34	01:01:19	Sim	16 (9)	-	-
39	01:06	Sim	33 (9)	-	-
41	01:01:20	Não	X	Não	X
43	01:01:02	Sim	58 (9)	-	-
46	01:04:01	Sim	61 (3)	Não	X
49	01:01:02	Sim	16 (9)	Não	X
72	01:01:01	Sim	53 (6)	-	-
100	01:01:01	Sim	84 (3)	-	-
112	01:01:01	Sim	45 (7)	-	-
125	01:01:20	Não	X	-	-

Em cinza escuro: pacientes com persistência tipo-específica da infecção pelo HPV.

Em negro: alelos correlacionados a infecção já descritos na literatura.

Em vermelho: tipos de HPV de alto risco.

X: ausência de infecção.

--: dados não disponíveis.

Já estão descritos na literatura<sup>5,6</sup> correlações estatisticamente significativas entre os alelos G\*01:01:02 e G\*01:01:08 e à susceptibilidade a infecção pelo HPV, e dos alelos G\*01:01:02 e G\*01:03A à persistência do vírus no hospedeiro.

Nesse estudo, o alelo G\*01:01:02 também pode ser associado à infecção pelo HPV-16 em uma paciente, embora esta tenha sido caracterizada como HPV- na análise feita um ano após o parto. Já o alelo G\*01:04:01 associado a proteção contra a infecção pelas espécies 2, 3, 4 e 15, não mostrou efeito protetor contra a infecção pelo HPV tipo 61 por estar presente em uma mulher com alto risco de exposição ao vírus.

As demais correlações entre os alelos e a infecção serão feitas após a definição dos alelos das outras gestantes, para que possam ser feitas análises estatísticas, estabelecendo o potencial papel dos alelos do HLA-G na susceptibilidade à infecção e persistência do HPV.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1: Donadi E et al. Cell. Mol. Life Sci. 68:369-395 (2011).
- 2: Menier C et al. Atlas Genet Cytogenet Haematol 13:7 (2009).
- 3: Fainardi E et al. Cell. Mol. Life Sci. 68:433-451 (2011).
- 4: Larsen M et al. Hum Immunol 70:1026-1034 (2019).
- 5: Ferguson R et al. Hum Immunol 72:337-341 (2011).
- 6: Ferguson R et al. Int. J. Cancer 131:E312-E319 (2012).