



**BAHIANA**  
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

**PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO CERVICAL PELO  
PAPILOMA VÍRUS HUMANO EM MULHERES COM  
LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO.**

**Dissertação de Mestrado**

**Leomar D´Cirqueira Lyrio**

Salvador - Bahia

Brasil

2011



**PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO CERVICAL PELO  
PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM MULHERES COM LÚPUS  
ERITEMATOSO SISTÊMICO.**

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em Medicina e Saúde Humana da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública para obtenção do título em Mestre em Medicina.

**Autor:** Leomar D’Cirqueira Lyrio

**Orientador:** Mittermayer B.Santiago

Salvador - Bahia

Brasil

2011

Ficha Catalográfica elaborada pela  
Biblioteca da EBMSP

L992 Lyrio, Leomar D´Cirqueira.  
Prevalência da infecção cervical pelo papiloma vírus humano em  
mulheres com lúpus eritematoso sistêmico. / Leomar D´Cirqueira Lyrio.  
– Salvador : Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. 2013.

52 f.

Dissertação (Mestrado em Medicina e Saúde Humana) – Escola  
Bahiana de Medicina e Saúde Pública. 2013.  
Orientação: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Mittermayer Barreto Santiago.

1. Papiloma vírus humano. 2. Lúpus eritematoso sistêmico. 3. PCR.  
4. Imunossupressão. 5. Câncer cervical. 6. Mulher.  
7. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública - EBMSP. I. Título.

CDU: 616-006.52



## **Aos meus filhos:**

Guilherme Almeida Lyrio

Priscila Almeida e Lyrio

“Saber esperar,

Saber perdoar,

E querer sempre.”

*Chico Xavier*



**BAHIANA**  
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

## **INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS**

**EBMSP** - Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

**FIOCRUZ** - Bahia-Fundação Osvaldo Cruz – Centro de Pesquisa

Gonçalo Muniz

**HSI** - Hospital Santa Izabel



## EQUIPE

Leomar D’Cirqueira Lyrio, mestrando

Mittermayer Barreto Santiago, orientador

Maria Fernanda Rios Grassi, pesquisadora

Viviana Gallazi Olavarria, doutoranda/EBMSP

Iuri Usêda Santana, acad. do curso médico, bolsista da FIOCRUZ

Aline do N.Gomes, acad<sup>a</sup>. do curso médico, bolsista da FIOCRUZ

Licia Costa Pinto, mestranda/ EBMSP

Rone Peterson C. de Oliveira, professor/EBMSP

Rita de Cássia R. de S. Aquino, médica, citopatologista



**BAHIANA**  
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

**ESTUDO DE PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO CERVICAL  
PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM MULHERES  
COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO**

**Leomar D’Cirqueira Lyrio**

Folha de Aprovação  
Comissão Examinadora

**Prof. Dr. Luís Cláudio Lemos Correia:**

Professor Livre-Docente em Cardiologia pela Universidade Federal da Bahia, UFBA

Professor Adjunto da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, EBMSP

Doutor em Medicina e Saúde

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Betânia Pereira Toralles:**

Doutora em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia, UFBA – 1999

Professora Adjunta da Universidade Federal da Bahia, UFBA.

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Fernanda Rios Grassi:**

Doutora em Imunologia pela Université de Paris VII – 1998

Professora Adjunta da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, EBMSP



**BAHIANA**  
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

## DEDICATÓRIA

A minha esposa, *Mercedes*, símbolo do que é ser mulher em toda sua essência e que tem sido para mim uma verdadeira razão de viver.

Aos meus pais, *Gilberto e Maria Angélica*, por me proporcionarem a oportunidade do saber.

As “*Mulheres*” que colaboraram com este trabalho doando-se, gratuitamente, em prol da humanidade.





**BAHIANA**  
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

## **FONTE DE FINANCIAMENTO**

SERVIÇO DE REUMATOLOGIA DO HOSPITAL SANTA IZABEL

FIOCRUZ - FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ – CENTRO DE

PESQUISA GONÇALO MUNIZ Salvador-Bahia.

## **AGRADECIMENTOS**

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz Salvador-Bahia

Hospital Santa Izabel

Laboratório DNA

Maria Fernanda Rios Grassi

Mittermayer Barreto Santiago

Rita de Cássia Ramos de Souza Aquino

Viviana Gallazi Olavarria

### **Agradecimento Especial pela dedicação e companheirismo.**

Iuri Usêda Santana

“Na verdade, precisamos de muito pouco para viver.

Apenas, uns dos outros”.

*Mercedes Lyrio*

# ÍNDICE

## Índice de Figuras

Figura 1	05
Figura 2	08
Figura 3	09

## Índice de Tabelas

Tabela 1	21
Tabela 2	22
Tabela 3	22
Tabela 4	23
Tabela 5	24

## SIGLÁRIO

<b>I. RESUMO</b>	04
<b>II. INTRODUÇÃO</b>	05
<b>III. REVISÃO DA LITERATURA</b>	06
<b>IV. OBJETIVO</b>	16
<b>V. MATERIA E MÉTODOS</b>	16
<b>VI. RESULTADOS</b>	20
<b>VII. DISCUSSÃO</b>	24
<b>VIII. CONCLUSÕES</b>	27
<b>IX. ABSTRACT</b>	27
<b>X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	28
<b>XI. ANEXOS</b>	
XI.1 Termo de Consentimento Livre Esclarecido	31
XI.2 Questionário Estruturado	32
XI.3 Carta de aprovação da pesquisa pelo CEP	33
XI.4 Artigo a ser submetido	35

## SIGLÁRIO

ACO: Anticoncepcional oral

ACR: American College of Rheumatology

Colégio Americano de Reumatologia

AGUS: Atypical glandular cells of undetermined significance

Células Glandulares de Significado Indeterminado

ASCUS: Atypical squamous cells of undetermined significance

Células Escamosas de Significado Indeterminado

ATHENA: Addressing THE Need for Advanced HPV Diagnostic

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

CH: Captura Híbrida

Cols. Colaboradores

DNA: Ácido Desoxirribonucléico

dp: Desvio Padrão

DST: Doença Sexualmente Transmissível

EAB: Epitélio Aceto Branco

EDTA: Ácido Etileno Diamino Tetra-acético

EBMSP: Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

FDA: Food and Drug Administration

FIOCRUZ: Fundação Osvaldo Cruz

HCL: Ácido Clorídrico

HIV: Human Immunodeficiency Virus

Vírus da imunodeficiência humana

HPV: Human papillomavirus

Papilomavírus humano

HSI: Hospital Santa Izabel

H-SIL: High grade squamous intraepithelial lesion

Lesão Intraepitelial de Alto grau

INCA: Instituto Nacional do Câncer

IV: Intravenoso

LASP: Laboratório Avançado em Saúde Pública- FIOCRUZ

LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico

LIEAG: Lesão Intraepitelial de Alto Grau

LIEBG: Lesão Intraepitelial de Baixo Grau

L-SIL: Low-grade squamous intraepithelial lesion

Lesão Intraepitelial de Baixo grau

MS: Ministério da Saúde

n- PCR: Reação em Cadeia da Polimerase – nested

NIC: Neoplasia Intraepitelial cervical

p: Significância Estatística

PCR: Reação em Cadeia da Polimerase (*em ingles*)

PI: Processo Inflamatório

SIDA: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SIL: Squamous intraepithelial lesion

Lesão Escamosa Intraepitelial

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

TCLE: Termo de Consentimento Livre Esclarecido

VLPs: Virus Like Particules

Partículas Semelhantes ao Vírus

VO: Via Oral

ZIN: Zona Iodo Negativa

ZTA: Zona de Transformação Atípica

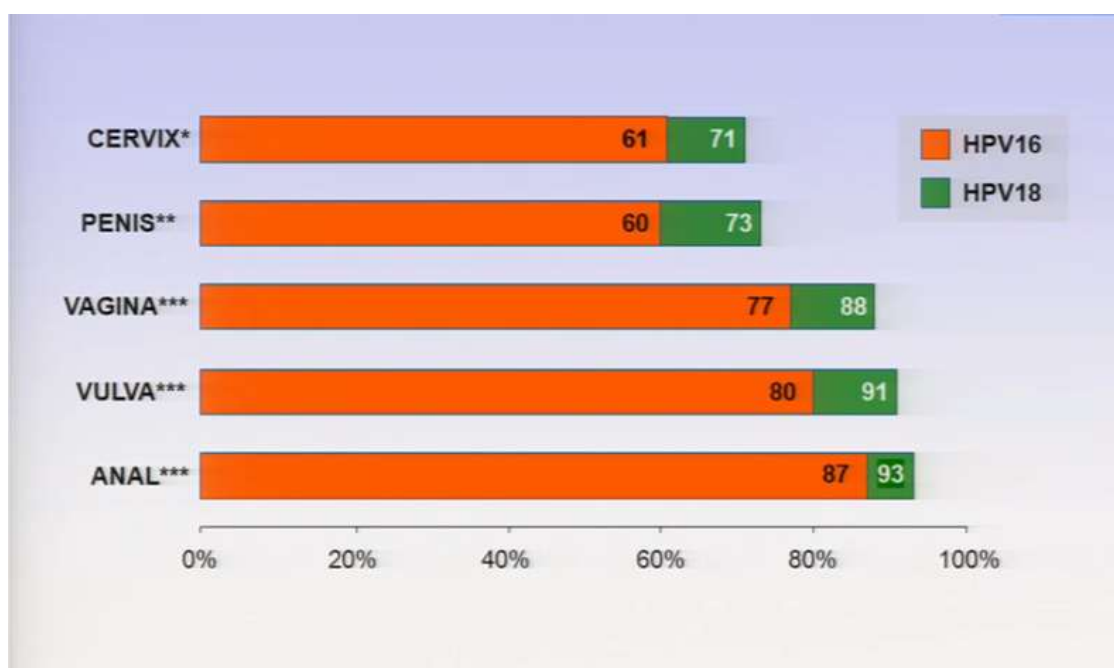
## **I. RESUMO**

**Introdução:** A infecção genital pelo **Papilomavírus Humano (HPV)** tende a ocorrer com maior frequência em portadores de condições associadas à supressão do sistema imunológico. O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica, de base imunológica, com uma diversidade de manifestações clínicas e de autoanticorpos circulantes. **Objetivo:** Determinar a prevalência da infecção cervical pelo HPV em mulheres com LES. **Material e Métodos:** Estudo de prevalência da infecção cervical pelo HPV, em mulheres com LES, do tipo corte transversal de diagnóstico analítico. Foram estudadas mulheres com diagnóstico de LES baseado nos critérios do Colégio Americano de Reumatologia. Como grupo de comparação foram estudadas mulheres clinicamente saudáveis, submetidas a exame ginecológico pela técnica de Papanicolaou. As pacientes foram oriundas do ambulatório da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP) em Salvador-Bahia. A pesquisa do HPV foi realizada através da técnica de reação em cadeia da polimerase – *nested* (n-PCR). **Resultados:** A prevalência de infecção pelo HPV foi de 80,7% (71/88) no grupo de mulheres com LES e de 35,7% (25/70) no grupo controle ( $p < 0,0001$ ). A razão de chances para infecção pelo HPV em mulheres com LES foi 7,2 (IC 95%; 2,9-17,8;  $p = 0,0001$ ) após ajuste das variáveis: faixa etária, início de vida sexual, número de parceiros e história obstétrica. O uso de imunossupressores não apresentou associação com a infecção pelo HPV. **Conclusões:** Mulheres com LES apresentam uma alta prevalência de infecção cervical pelo HPV, mesmo quando expostas a menos potenciais fatores de risco para esses vírus, classicamente descritos na literatura.

**Palavras chaves:** 1. **Papilomavírus Humano;** 2. **Lúpus Eritematoso Sistêmico;** 3. **PCR**  
4. **Imunossupressão;** 5. **Câncer cervical.**

## II. INTRODUÇÃO

O **Papilomavírus Humano (HPV)** constitui um grupo de DNA vírus da família *papoviridae*. Existem descritos na literatura mais de 200 tipos que podem infectar o hospedeiro em vários locais, sendo a região anogenital a mais comumente atingida (1). Este tipo de vírus divide-se em dois grupos: HPV de baixo potencial oncogênico, representado principalmente pelos tipos 06 e 11 e HPV de alto potencial oncogênico, destacando-se os tipos 16 e 18. De maneira geral, 90% das verrugas anogenitais estão associadas aos tipos 06 e 11. Enquanto que, o 16 e 18 são os tipos encontrados em 70% dos casos de carcinoma cervical de células escamosas (2) (Figura 1).



**Figura 1.** Contribuição relativa do HPV 16 e 18 para o câncer anogenital. Extraído do Instituto Català d'Oncologia/Centro de informação em HPV e Câncer Cervical. Organização Mundial de Saúde.

Os potenciais fatores de risco para infecção cervical pelo HPV são: idade entre 20 e 24 anos, início de vida sexual precoce, múltiplos parceiros sexuais, tabagismo, gravidez, estado nutricional, doenças sexualmente transmissíveis (DSTs) prévias como herpes genital

e a *Chlamydia trachomatis* (3, 4). A imunossupressão é também um fator de risco importante. (5, 6)

A presença do HPV é condição necessária, mas não suficiente para o desenvolvimento do câncer cervical (4). Estudo de caso-controle confirma que o HPV/DNA pode ser detectado em 99,7% em mulheres com câncer cervical confirmado histologicamente quando comparado com 13,4% dos controles (7).

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica, sistêmica, de causa desconhecida, natureza autoimune, caracterizada pela presença de diversos autoanticorpos. Evolui com manifestações clínicas polimórficas, com períodos de exacerbação e de redução da atividade da doença. Embora possa ocorrer em qualquer idade, é mais freqüente entre 20 e 45 anos com maior incidência por volta dos 30 anos, afeta 10 a 12 vezes mais o sexo feminino do que o masculino. O tratamento implica no uso de imunossupressores (6).

Considerando-se que, os mecanismos normais de defesa contra vírus oncogênicos estão comprometidos em pacientes com LES e/ou em uso de imunossupressores, espera-se o aumento do risco de alterações cervicais nestas pacientes. Entretanto, não está bem definida na literatura científica a associação com infecção cervical pelo HPV em mulheres com LES, principalmente em usuárias de imunossupressores.

### **III. REVISÃO DA LITERATURA**

O câncer de colo do útero apresenta um dos mais altos potenciais de cura, chegando a 100% quando diagnosticado e tratado em estádios iniciais ou, em fases precursoras. Sua incidência aumenta a partir dos 30 anos de idade. As estimativas de mortalidade por câncer de colo do útero para o Brasil, elaboradas pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA) para o ano de 2003, previram 16.480 novos casos dessa patologia e 4.110 óbitos. Em 2006 foi



estimada a ocorrência de 19.260 novos casos. Em 2010, foi de 18.430 casos com um risco previsto de 18 casos para cada 100 mil mulheres. No Brasil, presume-se que o câncer cervical seja o 3º tipo mais comum de neoplasia maligna e a 4º causa de morte por câncer nas mulheres (1, 8), com uma taxa padronizada de mortalidade 5/100.000 mulheres, isso há pouco mais de duas décadas (1).

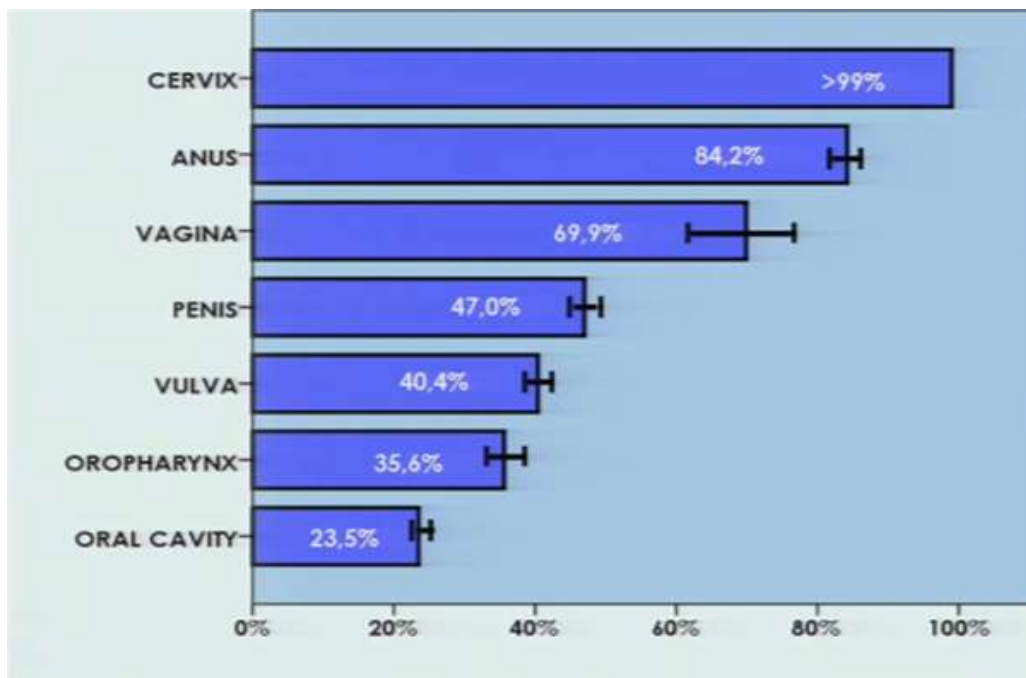
O padrão de ocorrência da doença pode variar no tempo dentro da mesma área, ou pode ser muito diferente entre duas ou mais regiões geográficas. A quase totalidade dos países desenvolvidos demonstra taxas muito baixa da incidência da doença. Entretanto, os em desenvolvimento evidenciam o oposto, vez que não dispõem de recursos para exames preventivos ou mesmo programas sociais de controle do câncer cervical na população base; as lesões precursoras, as quais poderão tornar-se câncer invasivo, podem até serem detectadas, mas não tratadas (9).

No Brasil, a presença do HPV varia de 55,2% a 91% naquelas pacientes acometidas por câncer cervical uterino, dependendo do tipo de material biológico e do método diagnóstico utilizado. Como consequência, o Ministério da Saúde (MS) notificou essa condição como uma questão de saúde pública.

O consenso de que o câncer cervical tem uma relação de casualidade com o HPV (10) fez com que o governo brasileiro assumisse, na década de 80, o seu controle como prioridade nas políticas de atenção à saúde da mulher. Para conhecer a real situação da prevenção do câncer de colo do útero o MS estabeleceu inquérito de investigação em exames realizados em mulheres de 25 a 69 anos (1). Reduzir a mortalidade por esta causa no Brasil é um desafio, apesar das entidades competentes terem registrado cerca de 11 milhões de exames citopatológicos em 2009 (1).

Também está estabelecido que, nem todos os tipos de HPV são capazes de causar câncer cervical uterino(4, 10). Um dos maiores determinantes de risco para o desenvolvimento do câncer cervical é a persistência de um mesmo subtipo viral, de alto risco, por períodos prolongados (4, 11).

Dentre os cânceres induzidos pelo HPV, 93,5% estão localizados na cérvix uterina. O restante está localizado na vagina, vulva, ânus, orofaringe e boca (2, 4, 12). A contribuição estimada do HPV para o câncer varia de 23,5-99% (Figura 2).

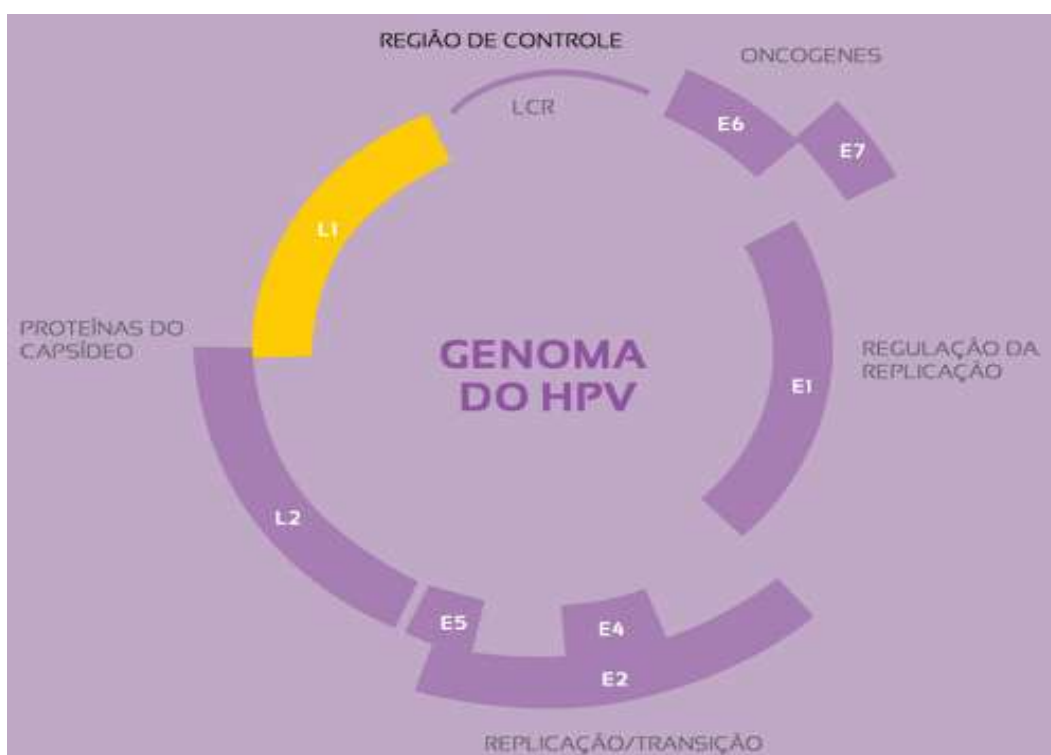


**Figura 2.** Contribuição estimada do HPV para o câncer. Extraído do Instituto Català d'Oncologia/Centro de informação em HPV e Câncer Cervical. Organização Mundial de Saúde.

Os registros da existência do HPV têm citações antigas. Os gregos e romanos observaram sua transmissão sexual devido à presença de lesões verrugosas no trato genital inferior. No século XX, foi então reconhecida a semelhança entre a verruga genital e a verruga de pele. Em 1956, a célula característica do HPV foi identificada por Koss e Durfee

que a denominaram de coilócito. Em 1970 foram reconhecidos os subtipos, em 1976 foi descrita a associação de infecção subclínica com neoplasia e, em 1980 a literatura científica apresentou mais riqueza de detalhes sobre o HPV como: informações mais específicas dos subtipos, detecção, epidemiologia e manejo (2, 13).

Todos os papilomavírus apresentam uma organização genômica similar classificadas em três regiões gênicas: *early*, *late* e *regulatory*. As cinco “early” proteínas (E1, E2, E5, E6 e E7) são necessárias para replicação viral e transformação celular (9). Fig 3.



**Figura 3** - Organização genômica do HPV. Extraído do *Google imagem* (10).

No hospedeiro, o HPV pode apresentar-se na forma *episomal*, encontrada em lesões de menor gravidade na qual o DNA viral se coloca dentro da célula, porém não se integrando a ela. Na forma *integrada* presente nas lesões de maior gravidade, o DNA viral liga-se ao genoma da célula hospedeira. (13, 14).

A possibilidade de contrair infecção por HPV oncogênico é alta durante a vida sexual ativa da mulher (4). Estudos calculam um risco em torno de 80% e, por se tratar de uma infecção sexualmente transmissível, o risco acumulado de adquiri-la com apenas um parceiro é de 46% três anos após a primeira relação (4). Vale também ressaltar que, apesar de ser uma infecção comum, independentemente do comportamento sexual da mulher, a grande maioria é eliminada espontaneamente sem nenhuma intervenção.

Apesar de 75% da população sexualmente ativa já ter entrado em contato com um ou mais tipos de HPV durante a vida, apenas 2% das neoplasias cervicais induzidas por este vírus terão um desfecho como câncer (15, 16). Este comportamento espontâneo do hospedeiro não permitindo a ação oncogênica do vírus reforça a teoria de que vários outros potenciais fatores de risco favorecem a progressão do câncer cervical como: fumo, atividade sexual precoce, DST's, multiplicidade de parceiros sexuais, doenças associadas à imunossupressão como leucemia, linfoma, síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) e também o uso de imunossupressores (4, 10).

Estudos recentes revelam que, se a infecção por HPV oncogênico persiste por 12 a 18 meses, o risco para desenvolvimento de neoplasia intraepitelial cervical aumenta significativamente. Ainda, segundo um destes estudos, após a primeira infecção pelo HPV 16 ou 18, o tempo médio para o desenvolvimento de uma lesão intraepitelial é de aproximadamente três anos e meio e para outros tipos oncogênicos o tempo médio é de quatro anos (17, 18).

A transmissão ocorre através de contato direto com as áreas micro traumatizadas e o período de incubação do HPV varia de três a oito meses (2). Nestas áreas, ocorre replicação viral no interior das células do hospedeiro, infectando células vizinhas e conseqüentemente propiciando o surgimento de lesões verrucosas (2).

O HPV tem a capacidade de codificar as oncoproteínas E6 e E7 que são pleiotrópicas e promovem o processo maligno. A oncoproteína E6 ao ligar-se à proteína supressora tumoral p53, interfere na apoptose e reparo do DNA, acelerando os mecanismos de degradação fisiológicos desta proteína. A oncoproteína E7 por sua vez inativa a proteína supressora tumoral pRb (retinoblasto), estimulando a síntese de DNA na célula do hospedeiro ativando assim células quiescentes responsáveis pelo o ciclo celular. A ação combinatória da E6 e E7 favorece com que a célula se perpetue e incorpore mutações fenotípicas (13-15, 19).

Dos mais de 40 tipos de HPV que comumente infectam o trato genital inferior, 14 tipos, HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68, foram categorizados como oncogênicos. Aproximadamente, 90% dos cânceres do colo uterino são causados por cinco tipos de HPV: 16 (53%), 18 (15%), 45 (9%), 31 (6%), e 33 (3%) respectivamente por ordem de prevalência (2, 4, 7).

Os tipos de HPV não oncogênicos 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 e 81 estão associados às lesões benignas como as verrugas, condilomas ou neoplasias intraepiteliais cervicais grau I (NIC I) e, dificilmente estão associados à NIC II ou III ou ao câncer invasivo de colo do útero (2, 4).

A determinação da verdadeira prevalência da infecção cervical pelo HPV não é fácil. As taxas de detecção do HPV dependem da população estudada, do método usado, do tipo da amostra, e como ela é obtida. Outro fator relevante é a dificuldade de acesso aos métodos diagnósticos de maior acurácia, principalmente na população de menor poder aquisitivo.

Em mulheres assintomáticas no Brasil, a prevalência da infecção cervical pelo HPV varia de 15% a 27% (1). Estudo realizado na população brasileira demonstrou que a infecção cervical pelo HPV 16 é a mais freqüente em todas as regiões do país, entretanto existe uma

variação importante quanto à frequência por outros tipos. A infecção pelo HPV 18 por sua vez, é a segunda mais prevalente no Norte, Sul e Sudeste. Os tipos 31 e 33 ocupam o segundo lugar em prevalência nas regiões Nordeste e Central respectivamente. Estudos deste gênero colaboram na aplicação de estratégias de prevenção do câncer, incluindo o desenvolvimento e avaliação da eficácia das vacinas (8).

Desde 1989 há esforços no sentido de padronizar os métodos de detecção do HPV como investigação usual e comum a todos (20). Alguns métodos não são suficientes para que se tenha certeza da presença viral, como também não são capazes de informar qual o tipo presente. A citologia cérvico-vaginal, pela técnica Papanicolaou, identifica a célula coilocitótica, considerada patognomônica da infecção. A colposcopia permite identificar áreas suspeitas representadas pela zona de transformação atípica (ZTA) as quais poderão ser biopsiadas para estudo histológico. Técnicas de biologia molecular como captura híbrida (CH) e a reação em cadeia da polimerase (PCR) são utilizadas para confirmação da infecção uma vez que a citologia, a colposcopia e a histologia podem divergir quanto ao diagnóstico das formas de infecção viral, além de não identificarem os tipos de HPV.

As técnicas de biologia molecular não só possibilitam o diagnóstico diferencial como permitem identificar os tipos de HPV existentes. A CH é um exame qualitativo e quantitativo, entretanto por não identificar o tipo viral pode conduzir a interpretação da infecção como persistente quando na realidade sofreu mudança do tipo viral (11). Por outro lado, o PCR, por ser capaz de identificar o tipo viral oferece um diagnóstico de certeza com maior precisão. Estudo realizado, por Chang e cols. em 1995, demonstrou que a técnica por *nested*- PCR (n-PCR) apresenta maior sensibilidade e especificidade que a técnica de CH (21). Outro estudo, realizado em 2000 por Munõz, usando amostras cervicais de biópsias de pacientes de 22 países, detectou o DNA do HPV por PCR em 99,7% dos casos de câncer cervical, ratificando que o HPV é de fato o agente determinante desta enfermidade (7).

Diante do exposto e, sabendo-se que o HPV é o elemento mais envolvido no processo de desencadeamento das alterações neoplásicas da cérvix uterina e que, as doenças virais acometem com mais frequência mulheres imunossuprimidas, presume-se que pacientes com LES possam desenvolver lesões neoplásicas que evoluirão para a malignidade mais facilmente do que nas mulheres clinicamente saudáveis, precipuamente se não estiverem incluídas em um protocolo de segmento ginecológico adequado.

O FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou na última década, a vacina bivalente, Cervarix® (GSK), que visa a formação de anticorpos para os tipos de HPV 16 e 18, e deve ser administrada em mulheres entre 10 e 25 anos no esquema de 0-1-6 meses (22) com eficácia em torno de 92,9% (23) e a quadrivalente, Gardasil® (MSD), que abrange os tipos 6, 11, 16 e 18. Essa deve ser administrada em mulheres com idade entre 09 e 26 anos, no esquema 0 – 2 - 6 meses (22) e confere proteção próximo aos 98,2% (23).

São obtidas por tecnologia recombinante a partir da proteína L1 do capsídeo do vírus, (as VLPs: Partículas Semelhantes ao Vírus). Não contêm material genético do vírus, o que lhes confere a capacidade de não promover infecção (4). O modo de ação das vacinas não está ainda perfeitamente estabelecido. Tudo parece indicar que este mecanismo de defesa ocorra na mucosa cérvicovaginal onde os títulos de anticorpos anti-HPV específicos são detectados em níveis bastante elevados (3).

O LES é uma doença autoimune inflamatória crônica, sistêmica. Admite-se que as interações de fatores genéticos, hormonais e ambientais participem do desencadeamento da mesma (24). O diagnóstico de LES é feito com base em um conjunto de alterações clínicas e laboratoriais, e não pela presença de apenas um exame ou manifestação clínica isolada (24) e evolui com períodos de exacerbação e de redução da atividade da doença. Embora possa ocorrer em qualquer idade, é mais frequente entre 20 e 45 anos com maior incidência por volta dos 30 anos afetando 10 a 12 vezes mais o sexo feminino do que o masculino e o

tratamento implica no uso de imunossupressores (6, 24). Estudos epidemiológicos realizados nos Estados Unidos mostram uma prevalência variando de um caso para 2.000 até um para 10.000 habitantes (24). No Brasil, não há estudos epidemiológicos, mas estima-se que existam 16.000 a 80.000 casos da doença (24).

O objetivo do tratamento do LES é permitir o controle da atividade inflamatória da doença e minimizar efeitos colaterais dos medicamentos (24). O tratamento adequado tem conseguido aumentar a sobrevida e promover uma melhor qualidade de vida aos pacientes (24). O tratamento medicamentoso deve ser individualizado para cada caso, depende dos órgãos e sistemas acometidos e da gravidade destes acometimentos (25). As drogas mais usadas são os glicocorticóides e os antimaláricos mas, os casos mais graves exigem a utilização de medicações imunossupressoras como azatioprina, ciclofosfamida, metotrexato e micofenolato mofetil ou sódico.

A imunossupressão é sem dúvida um fator de predisposição importante nas doenças virais. A literatura tem demonstrado isto, principalmente com relação às pacientes infectadas pelo HIV, quando revela que mulheres co-infectadas pelo HIV e HPV apresentam menor possibilidade de regressão das neoplasias intraepiteliais cervicais e maior rapidez de progressão destas (13). Porém, a associação entre a infecção cervical pelo HPV em mulheres com LES, principalmente em usuárias de imunossupressores, não está bem definida (5, 6, 25-29). Nesse sentido, uma revisão sistemática sobre o tema foi desenvolvida em nosso meio por Santana e cols. e recentemente publicada (30). Os estudos mais relevantes desta revisão são descritos a seguir: Em 1994, Blumenfeld e cols. demonstraram uma prevalência elevada de alterações atípicas na cérvix uterina destas pacientes em relação ao grupo controle de mulheres clinicamente saudáveis, entretanto não encontraram relação com o uso de imunossupressores e o tempo de diagnóstico da doença (26). Em 1999, Berthier e cols. ratificaram as informações de Blumenfeld descrevendo que as displasias são seis vezes mais



freqüentes em mulheres com LES (27). Bateman e cols. em 2000, em uma revisão da literatura, observaram em pacientes com LES que fizeram uso de ciclofosfamida um incremento na prevalência de displasia, como também identificaram um menor tempo para o desenvolvimento desta alteração principalmente naquelas que já possuíam diagnóstico prévio (31).

Dhar e cols. em 2001, em uma coorte retrospectiva usando a Classificação de Bethesda, demonstraram que mulheres com LES apresentavam uma prevalência aumentada de alterações cervicais (28). Este mesmo trabalho cita resultado do estudo realizado por Nyberg e cols. que não só encontraram um aumento de atipia cervical em 80 mulheres com lúpus em comparação com dados extraídos de registro eletrônico hospitalar de 80 mulheres clinicamente saudáveis, como também observaram a associação de atipia cervical com o uso prévio ou corrente de quimioterápicos (29). Bernatsky e cols. em 2004, em uma coorte multicêntrica, determinaram que os potenciais fatores de risco mais associados a resultados anormais em exames de Papanicolaou em mulheres com LES, foram as DSTs, anticoncepcionais orais (ACO's) e o uso de imunossuppressores (ciclofosfamida, azatioprina e metotrexato) (5).

Ognenovsky e cols. em 2004 estudaram a associação entre imunossuppressores e NIC em mulheres com LES (6). Estas foram divididas em quatro grupos: (1) prednisona; (2) azatioprina; (3) ciclofosfamida intravenosa IV e (4) ciclofosfamida IV + azatioprina + prednisona. O grupo tratado com ciclofosfamida + prednisona e o grupo tratado com ciclofosfamida IV + azatioprina + prednisona mostraram significativa associação com o desenvolvimento de NIC em correlação com o grupo tratado só com prednisona (6). Tam e cols. em 2004, em um estudo de corte transversal, concluíram que amostras anormais pela técnica de Papanicolaou foram mais comuns entre as pacientes com LES do que em relação ao grupo controle, principalmente após o ajuste do "status comportamental" destas mulheres.

Este mesmo trabalho evidenciou que os imunossupressores aumentam a suscetibilidade para infecção por HPV de alto risco e infecção por múltiplos tipos de HPV em mulheres com LES (32). Entretanto, o uso de imunossupressores não está associado com amostras anormais pela técnica de Papanicolaou (32). Barros e cols. em 2007 afirmaram que há maior prevalência de alterações em exames citológicos de esfregaço vaginal em mulheres com LES, as quais não dependem do tempo da doença, do uso de imunossupressores e nem da presença de anti-Ro, anti-La ou anti-DNA (33).

Assim, reunindo tais dados os autores da revisão sistemática concluíram que há na literatura certa concordância entre os estudos em relação à maior prevalência de alterações citológicas e infecção pelo HPV em pacientes com LES quando comparados com mulheres clinicamente saudáveis. No entanto, a associação entre o uso de imunossupressores e maior risco de infecção cervical pelo HPV e alterações celulares se mostram discordante na literatura. Evidencia também igual frequência de câncer cervical para este grupo de pacientes, quando comparados com a população saudável (30). Por outro lado, mais recentemente, um estudo de meta-análise realizado por Liu e cols. (34), demonstrou uma associação positiva entre mulheres com LES e o risco de desenvolverem neoplasia cervical e, uma alta tendência no risco de desenvolverem câncer cervical obtendo-se um *odds ratio* (OR) ajustado de 4.17% (95% IC 3.03, 5.74;  $p < 0.00001$ ) (34).

#### **IV. OBJETIVO**

Determinar a prevalência da infecção cervical pelo HPV em mulheres com lúpus eritematoso sistêmico.

#### **V. MATERIAL E MÉTODOS**

Estudo de prevalência da infecção cervical pelo HPV, em mulheres com LES, do tipo corte seccional de diagnóstico analítico.

Foram estudadas mulheres com diagnóstico de LES com base nos critérios do *American College of Rheumatology* (ACR) (35). Como grupo de comparação foram avaliadas mulheres clinicamente saudáveis submetidas a exame ginecológico pela técnica Papanicolaou. As pacientes eram acompanhadas no ambulatório da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP) em Salvador-Bahia.

O cálculo do tamanho amostral foi definido com base na revisão da literatura.

Foram **incluídas** pacientes maiores de 18 anos com vida sexual ativa, e **excluídas** pacientes com alterações psiquiátricas, pacientes submetidas à histerectomia total, gestantes e aquelas que se recusaram a assinar o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) (Anexo I).

Todas as pacientes responderam a um questionário estruturado, (Anexo II) avaliando-se aspectos sóciodemográficos, reumatológicos, ginecológicos e obstétricos. Particular ênfase foi dada ao uso de imunossupressores, quanto ao tipo, dose e tempo de uso. (azatioprina, ciclofosfamida, metotrexato, micofenolato mofetil ou sódico). Posteriormente, as pacientes foram examinadas pelo investigador, analisando em particular as alterações cervicais, utilizando-se de um aparelho colposcópico DF Vasconcelos. A terminologia da Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia – Rio de Janeiro 2011 foi adotada para classificação dos achados colposcópicos (9). Os achados colposcópicos anormais foram categorizados como ZTA: pontilhado, mosaico, vasos atípicos, epitélio aceto branco (eab) e zona iodo negativa (zin). As amostras citológicas foram colhidas da ecto e da endocérvice para pesquisa do HPV, utilizando-se *swabs* estéreis específicos (J. Prolab®, Brasil).

Os exames citológicos foram interpretados segundo a classificação de Bethesda 2001 (4): 1) Dentro dos limites de normalidades; 2) Células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS), células glandulares de significado indeterminado

(AGUS). 3) Alterações celulares sugerindo: a) lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LIEBG) b) lesão intraepitelial escamosa de alto grau (LIEAG) e c) carcinoma invasor.

A amostra cervical foi transportada em meio a 400µl de TE [10mM Tris-HCl pH 8.0 e 1mM ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA)] e armazenada à -20°C.

A extração de DNA foi realizada utilizando-se o kit comercial Qiam DNA Mini Kit® (QIAGEN, Alemanha) de acordo com protocolo do fabricante. As amostras foram congeladas em -20°C até o momento da utilização. Estas amostras foram submetidas à análise pela técnica de PCR no Laboratório Avançado em Saúde Pública (LASP) da FIOCRUZ em Salvador-Bahia.

Para reação de amplificação do DNA do HPV, utilizou-se a técnica de *nested*-PCR (n-PCR) modificada de acordo com estudo desenvolvido em 2010, por Demathe e col. (36) que realizaram a comparação entre dois métodos de detecção de DNA do HPV em carcinoma epidermoide de lábio (36). Para o primeiro *round*, utilizou-se o par de *primers* consensuais MY09/11, capaz de amplificar um fragmento de 450 pares de bases dirigido a região conservada da proteína viral L1, cuja sequência é: MY09 5' – CGTCCMARRGGAWACTGATC 3' e MY11 5' – GCMCAGGGWCATAAYAATGG - 3'. No segundo *round*, utilizou-se o par de *primers* consensuais GP5+/GP6+ para amplificação de fragmento de 150 pares de bases, dirigido a uma região contida no fragmento de 450 pares de bases previamente amplificada.

A reação de amplificação utilizou um sistema habitual para cada reação, contendo um volume final de 12,5µl. A reação do primeiro *round* foi composta por 1,25µl de Buffer (10x); 0,4µl de MgCl<sub>2</sub> (50mM); 2µl de dNTPs (1,25mM); 0,3µl de Taq DNA Polimerase (5U/µl); 1µl de cada *primer* MY09 e MY11 (10 pmol/µl); 5,5µl de água livre de RNAase; 1µl de DNA molde (em média 50-100ng/µl). A amplificação foi realizada em termociclador

Applied Biosystems Veriti™ Thermal Cycler, com a seguinte ciclagem de temperaturas: aquecimento inicial a 94°C durante 1 minuto; 40 ciclos de desnaturação a 95°C durante 1 minuto, anelamento a 55°C durante 1 minuto e extensão a 72°C durante 1 minuto, seguido de extensão final por 72 °C por 5 minutos. O segundo *round* foi realizado utilizando Top Taq Master Mix Kit (QIAGEN, Alemanha), sendo composta por 6,5µl de *TopTaq Master Mix (2x)*; 1,3µl de cada *primer GP5+/GP6+* (50pmol/µl); 1,3µl de *Coral Load Concentrate (10x)*; 1,1µl de água livre de RNAase; 1µl do resultado de PCR do primeiro *round*. A amplificação foi realizada em termociclador Applied Biosystems Veriti™ Thermal Cycler, com a seguinte ciclagem de temperaturas: aquecimento inicial a 94°C durante 4 minutos; 35 ciclos de desnaturação a 94°C durante 1 minuto, anelamento a 40°C durante 2 minutos e extensão a 72°C durante 1 minuto e meio, seguido de extensão final por 72 °C por 4 minutos. Para evitar resultados falso-negativos, um PCR adicional foi realizado utilizando o par de *primers* da proteína humana β-globina capaz de amplificar uma região de 268 pares de bases, capaz de garantir a adequabilidade do DNA extraído.

Para visualizar o produto do PCR foi realizada eletroforese em gel de agarose (2%) e corado com brometo de etídio. Os controles positivos e negativos foram amostras analisadas pelo kit cobas® 4800 HPV Test, cedidas pelo laboratório DNA em Salvador – Bahia, acrescida de um controle interno negativo, elaborado com os mesmos reagentes, substituindo-se o DNA molde por água.

O intervalo de confiança (IC) de 95% foi estabelecido para estimar a prevalência de HPV nessa população e o valor de  $p \leq 0,05$  foi admitido para se considerar significância estatística. As variáveis categóricas foram expressas em valores absolutos e percentuais e as quantitativas descritas em média e desvio-padrão. O teste do Qui-quadrado de Pearson e o teste exato de Fischer foram utilizados para comparação de variáveis categóricas entre dois grupos. O teste t-Student foi utilizado para comparação de variáveis contínuas também entre

dois grupos, considerando-se a distribuição paramétrica das amostras estudadas, confirmada pelo histograma e pela congruência entre a média e mediana. Investigou-se a associação entre LES e infecção pelo HPV, levando-se em conta os potenciais fatores de risco já conhecidos para infecção genital por este vírus. Em relação à regressão logística determinou-se a razão de chance ou *odds ratio* ajustando as variáveis que apresentaram pelo menos moderada associação com a infecção pelo HPV. A análise estatística foi realizada utilizando-se o software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versão 17.0. As referências bibliográficas foram introduzidas usando-se o gerenciador eletrônico de referências tipo “Endnote” na versão Vancouver.

O estudo foi submetido e aprovado em 13.08.2008 pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) Professor Dr. Celso Figueirôa - Hospital Santa Izabel (HSI), folha de rosto nº 19430. (Anexo III). Todas as pacientes ou responsáveis leram e assinaram o TCLE antes de aderirem ao estudo.

## **VI. RESULTADOS**

A amostra de conveniência deste estudo foi composta por 90 mulheres com diagnóstico de LES e o grupo de comparação foi representado por 70 mulheres clinicamente saudáveis. Porém duas pacientes com LES foram excluídas devido à baixa concentração de DNA extraído das amostras cervicais. A média de idade das pacientes foi de  $41,4 \pm 11,6$  anos no grupo LES e de  $29,0 \pm 5,9$  anos no grupo controle ( $p < 0,0001$ ), assim como a média de idade da primeira relação sexual que foi de  $19,9 \pm 4,9$  anos nas pacientes com LES e  $17,6 \pm 4,1$  anos nas mulheres do grupo controle ( $p = 0,002$ ). O número de parceiros sexuais foi discretamente inferior para as mulheres com LES ( $2,8 \pm 2,2$ ), comparadas as do grupo controle ( $3,79 \pm 4,5$ ), no entanto essa diferença não foi estatisticamente significativa. A

prevalência de infecção cervical pelo HPV foi de 80,7% (71/88) no grupo com LES e de 35,7% (25/70) no grupo controle ( $p < 0,0001$ ) (Tabela 1).

**TABELA 1.** Características sócio-demográficas, antecedentes sexuais e prevalência de HPV cervical em pacientes com LES e das mulheres clinicamente saudáveis.

	Grupo LES (n=90)	Grupo controle (n=70)	Valor de p
Idade (anos)	41,4±11,6	29,0±5,9	< 0,0001
Renda familiar			0,35
Até 1 salário	49 (54,4)	33 (47,1)	
2 ou mais salários	41 (45,6)	37 (52,9)	
Escolaridade*			0,26
Abaixo ou igual a 8 anos	35 (41,7)	24 (34,3)	
Entre 8 e 11 anos	39 (46,4)	31 (44,3)	
A partir de 12 anos	10 (11,9)	15 (21,4)	
Início de vida sexual (anos)	19,9±4,9	17,6±4,1	0,002
Número de parceiros	2,8±2,2	3,79±4,5	0,09
Paridade	1,7±1,9	1,3±1,2	0,11
Abortamentos	0,7±1,1	0,5±0,9	0,37
Uso de preservativo	14(15,6)	12(17,1)	0,78
Prevalência de infecção cervical pelo HPV	71(80,7)	25(35,7)	< 0,0001

Dados apresentados como média e desvio-padrão para variáveis contínuas e n (%) para variáveis categóricas.

\*Resultado para grupo LES com n=84.

**Abreviações:** LES: Lúpus eritematosos sistêmico.

HPV: Papilomavírus humano

No entanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes em relação às alterações citológicas: LIEBG, LIEAG, ASCUS no grupo com LES comparado ao grupo de mulheres clinicamente saudáveis. Contudo, observou-se menor frequência de resultados citopatológicos normais no grupo LES 1/71 (1,4%) em relação ao grupo controle

5/25 (20%);  $p < 0,004$  e maior frequência de achados colposcópicos anormais para o grupo com LES a despeito da não significância estatística (Tabela 2).

**TABELA 2.** Achados colpocitológicos e colposcópicos em pacientes com LES e mulheres clinicamente saudáveis com infecção cervical por HPV.

	Grupo LES (n= 71)	Grupo controle (n= 25)	Valor de p
LIEBG	11 (15,5)	2 (8,0)	0,50
LIEAG	3 (4,2)	0 (0)	0,56
PI	48 (67,6)	18 (72,0)	0,68
Normal	1 (1,4)	5 (20)	< 0,004
ASCUS	3 (4,2)	0 (0)	0,56
Achados colposcópicos anormais	13 (18,3)	3 (12)	0,22

Dados apresentados como n (%) para variáveis categóricas.

\* Resultado para grupo LES com n=88.

**Abreviações:** LIEBG: Lesão intraepitelial de baixo grau; LIEAG: Lesão intraepitelial de alto grau; PI: Processo inflamatório; ASCUS: Células escamosas atípicas de significado indeterminado; LES: Lúpus eritematoso sistêmico; HPV: Papilomavírus humano.

O *odds ratio* para infecção pelo HPV em mulheres com LES foi 7,1 (IC 95%; 2,9-17,7;  $p = 0,0001$ ) após ajuste das variáveis: faixa etária, início de vida sexual, número de parceiros, uso de preservativos e história obstétrica (Tabela 3).

**TABELA 3.** *Odds ratio* ajustado para potenciais fatores de risco para infecção por HPV.

Variáveis	OR ajustado	IC 95%	Valor de p
LES	7,1	2,9-17,7	< 0,0001
Idade	1,0	0,9-1,0	0,55
Início de vida sexual	0,9	0,8-1,0	0,51
Número de parceiros	0,9	0,8-1,1	0,87
Uso de preservativos	0,5	0,2-1,6	0,31
Paridade	0,8	0,6-1,1	0,28

**Abreviações:** LES: Lúpus eritematoso sistêmico; IC: Intervalo de Confiança; OR: Odds ratio.



Em relação aos fatores de risco associados à infecção cervical pelo HPV no grupo de pacientes com LES, o uso de preservativo foi menor no grupo de pacientes com infecção cervical por HPV (9,9%), comparado ao grupo não infectado HPV-negativo (29,4%);  $p=0,03$ . Não houve diferença estatisticamente significativa em relação à idade da primeira relação sexual, número de parceiros, tempo de diagnóstico de LES, ou uso de imunossupressores. (Tabela 4).

**TABELA 4.** Possíveis fatores de risco para infecção pelo HPV nos pacientes com LES

	Infecção pelo HPV no grupo LES		Valor de p
	HPV+ (n=71)	HPV- (n=17)	
Idade	42,1±12,3	40,2±5,9	0,55
Renda familiar			0,96
Até 1 salário	38 (53,5)	9 (52,9)	
2 ou mais salários	33 (46,5)	8 (47,1)	
Escolaridade*			0,62
Abaixo ou igual a 8 anos	30 (44,1)	5 (31,3)	
Entre 8 e 11 anos	30 (44,1)	9 (56,3)	
A partir de 12 anos	8 (11,8)	2 (12,5)	
Início de vida sexual	20,2±5,1	18,7±3,9	0,24
Número de parceiros	2,8±2,2	2,8±2,4	0,97
Uso de preservativo	7 (9,9)	5 (29,4)	0,03
Uso de imunossupressor	49(69)	9(52,9)	0,20
Tempo do último preventivo	1,6±1,7	1,9±1,9	0,58

Dados apresentados como média e desvio-padrão para variáveis contínuas e n (%) para variáveis categóricas.

\* Resultado para grupo HPV+ com n=68; Resultado para grupo HPV- com n=16

**Abreviações:** LES: Lúpus eritematoso sistêmico; HPV: Papilomavírus humano.

Os achados colposcópicos anormais foram mais frequentes nas mulheres com LES infectadas pelo HPV em uso de imunossupressores (12(24,5)) comparadas àquelas que não faziam uso de imunossupressores (1(4,5))  $p=0,05$  (Tabela 5).

**Tabela 5.** Associação entre uso de imunossupressores\* e alterações colpocitológicas e colposcópicas nas pacientes com LES, infectadas pelo HPV.

	Uso de imunossupressores no grupo de pacientes com LES e HPV+		Valor de p
	Imunossupressor + (n=49)	Imunossupressor - (n=22)	
LIEBG	9 (18,4)	2 (9,1)	0,48
LIEAG	2 (4,1)	1 (4,5)	1,00
ASCUS	3 (6,1)	0 (0,0)	0,54
PI	32 (65,3)	16 (72,7)	0,53
Achados colposcópicos anormais	12 (24,5)	1 (4,5)	0,05

Dados apresentados como n (%) para variáveis categóricas.

**Abreviações:** LIEBG: Lesão intraepitelial de baixo grau; LIEAG: Lesão intraepitelial de alto grau; PI: Processo inflamatório; ASCUS: Células escamosas atípicas de significado indeterminado; LES: Lúpus eritematoso sistêmico; HPV: Papilomavírus humano.

\*Imunossupressores avaliados: azatioprina, ciclofosfamida IV, metotrexato e micofenolato mofetil ou sódico.

## VII. DISCUSSÃO

Os dados da literatura demonstram de forma consistente que mulheres com LES apresentam risco elevado para o desenvolvimento de alterações citológicas cervicais (28, 32, 33). No entanto, poucos estudos confirmaram o diagnóstico molecular da infecção cervical pelo HPV (32, 37). A infecção pelo HPV pode preceder o desenvolvimento de alterações citológicas por anos, sendo a persistência tecidual do vírus um importante fator de risco para a progressão das alterações celulares.

O presente estudo demonstrou uma maior prevalência de infecção cervical pelo HPV em mulheres com LES, quando comparadas com mulheres clinicamente saudáveis, apesar da menor exposição destas aos fatores de risco potenciais para infecção pelo HPV (maior média de idade e de início de vida sexual e menor número de parceiros sexuais que o grupo controle). Em um modelo de regressão logística multivariado, a presença do LES mostrou-se como um preditor independente para infecção pelo HPV. A prevalência de infecção cervical de HPV em mulheres com LES encontrada foi maior que a descrita na literatura. Tam e cols., na China observaram uma prevalência de 11,8% (32). Por outro lado, Nath e cols. em 2007, no Reino Unido, evidenciaram uma prevalência de 54% (37). Esta

diferença pode ser atribuída às técnicas diagnósticas utilizadas. Nos referidos estudos a infecção pelo HPV foi demonstrada por PCR simples, utilizando-se somente um par de *primers* consensuais. No presente estudo, utilizou-se a técnica de n-PCR, na qual se combinam dois diferentes pares de *primers* consensuais. A vantagem desta última técnica consiste no aumento substancial de sensibilidade (8, 36). Porém, não se exclui a contribuição de fatores genéticos ainda não definidos das diversas populações estudadas.

As mulheres com LES apresentam maior predisposição para infecção por diferentes agentes etiológicos em relação à população clinicamente saudável (38). Esta maior susceptibilidade pode ser explicada pelas diversas alterações intrínsecas da doença, associada ao uso de terapia imunossupressora (39). Pacientes com LES possuem defeitos nos mecanismos envolvidos com a resposta imune inata, como ativação inapropriada de *toll-like receptors* para antígenos próprios, diminuição do *clearance* de corpos apoptóticos, deficiência de lecitina ligadora de manose e déficit em componentes do sistema complemento. Adicionalmente, possuem também diversas alterações da resposta imune adaptativa, com perda da autotolerância de linfócitos T e B e produção de diversos autoanticorpos contra antígenos próprios, além de menor produção de citocinas. Estas desordens imunológicas estão associadas com risco elevado de infecções bacterianas. Entretanto, diversos tipos de infecções virais também parecem ser mais comuns nestes pacientes (40), como é o caso das infecções por Parvovírus B19 (41, 42), citomegalovírus (43), vírus varicela-zóster (44), vírus Epstein-Barr (45) e vírus herpes simplex (46). Estes distúrbios imunológicos também parecem se associar com maior risco de infecção cervical pelo HPV, com maior persistência tecidual e desenvolvimento de lesões malignas. Por isto, pressupõe-se que a infecção cervical pelo HPV nestas pacientes tende a se resolver espontaneamente com menor frequência do que nas mulheres saudáveis.

Em relação aos imunossupressores ainda não há consenso na literatura entre o uso destas drogas e maior prevalência de infecção cervical pelo HPV em mulheres com LES. Alguns estudos associam o uso da azatioprina (29) e da ciclofosfamida (6, 31) a uma maior prevalência de infecção cervical em mulheres com LES. O mesmo foi observado em pacientes não lúpicas em uso de azatioprina, submetidas a transplante renal (47). Entretanto tal associação não foi observada por outros autores (32, 33). No presente estudo o uso de imunossupressores não foi associado a uma maior prevalência de infecção cervical pelo HPV nas mulheres com LES. No entanto, naquelas com infecção pelo HPV e em uso de imunossupressores observou-se uma maior frequência de achados colposcópicos anormais, comparadas àquelas que não faziam uso de imunossupressores. Estes resultados devem ser interpretados com cautela, pois o número de pacientes com LES que não usava imunossupressores foi relativamente pequeno.

Adicionalmente, o desenho do estudo, do tipo corte transversal, não permite o acompanhamento das pacientes e a eventual evolução para câncer cervical. Por outro lado, o fato de estar usando ou ter usado imunossupressor não determina o grau de imunossupressão do indivíduo, sendo assim, um estudo mais profundo levando-se em conta o tipo de droga, a dose, o tempo de uso e o seu reflexo no número, tipo e função das células do sistema imune deve ser realizado. Outro ponto importante é relacionado à identificação dos subtipos viral envolvidos na infecção nestas mulheres. Neste estudo não foi possível determinar os subtipos de HPV mais prevalentes nos grupos de mulheres com LES e nos controles saudáveis.

Em conclusão, os resultados obtidos indicam que as mulheres com LES têm maior prevalência de infecção cervical pelo HPV que o grupo controle. Esta alta prevalência foi encontrada a despeito destas mulheres terem sido expostas a menos potenciais fatores de risco. Desta forma, recomenda-se que as pacientes lúpicas tenham uma avaliação

ginecológica regular, com intervalos mais curtos de tempo do que a população em geral. Adicionalmente, o uso profilático de vacinas para HPV pode ser uma ferramenta válida para estas pacientes. Estudos são necessários para definir os subtipos envolvidos na infecção cervical nesse grupo de pacientes e se a eficácia das vacinas poderia ser modificada em vigência de imunossupressão imposta pela doença e/ou pelas drogas utilizadas para o seu tratamento.

## VIII. CONCLUSÕES

A prevalência da infecção cervical pelo HPV em mulheres com LES é maior que em mulheres clinicamente saudáveis.

## IX. ABSTRACT

**Background:** Genital infection by Human Papillomavirus (HPV) tends to occur more frequently in patients with conditions associated with immune suppression. Systemic lupus erythematosus (SLE) is an immunological disorder, characterized by generalized inflammation and a diversity of clinical manifestations and circulating autoantibodies. The aim of the present study was to determine the prevalence of genital HPV infection in SLE patients. **Methods:** Consecutives SLE patients attending the rheumatology outpatient clinic at Escola Bahiana de Medicina and Saude Publica, Salvador, Bahia were included in the study. The diagnostic of SLE was based on the the American College of Rheumatology criteria. As a comparison group clinically healthy women, attending the gynecology outpatient clinic for routine examination at the same institution were recruited. Cervical HPV infection was searched by nested polymerase chain reaction technique (n-PCR). **Results:** Eighty eight SLE female patients with a mean age of 41.4±11.6 years and 70 healthy female subjects (control group) were studied. The prevalence of HPV infection was 80.7% (71/88) in SLE and 35.7% (25/70) in control group (**p <0.0001**). After adjustment of the variables

age, early sexual activity, number of partners and obstetric history the odds ratio (OR) for genital HPV infection in women with SLE was 7.2 (95% CI 2.9 to 17.8,  $p = 0.0001$ ) The use of immunosuppressive drugs was not associated with higher frequency of HPV infection.

**Conclusion:** This study demonstrated that SLE patients have a higher prevalence of genital HPV infection, even when exposed to less potential risk factors for this virus.

**Key words:** 1. Human papillomavirus; 2. Systemic lupus erythematosus; 3. PCR; 4. Immunosuppression; 5. Cervical cancer.

## X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MS. Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero - atualização 2011. Rio de Janeiro 2011; Available from: [www.inca.gov.br](http://www.inca.gov.br).
2. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003 Feb 6;348(6):518-27.
3. MS. Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero - atualização 2011. 2011.
4. Carvalho NSd, editor. Patologia do Trato Genital Inferior e colposcopia. São Paulo: Livraria Atheneu; 2010.
5. Bernatsky S, Ramsey-Goldman R, Gordon C, Joseph L, Boivin JF, Rajan R, et al. Factors associated with abnormal Pap results in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2004 Nov;43(11):1386-9.
6. Ognenovski VM, Marder W, Somers EC, Johnston CM, Farrehi JG, Selvaggi SM, et al. Increased incidence of cervical intraepithelial neoplasia in women with systemic lupus erythematosus treated with intravenous cyclophosphamide. *J Rheumatol*. 2004 Sep;31(9):1763-7.
7. Munoz N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. *J Clin Virol*. 2000 Oct;19(1-2):1-5.
8. Freitas TP, Carmo BB, Paula FD, Rodrigues LF, Fernandes AP, Fernandes PA. Molecular detection of HPV 16 and 18 in cervical samples of patients from Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2007 Sep-Oct;49(5):297-301.
9. Apgar BS. *Colposcopy Principles and Practice*. Second edition ed: Saunders Elsevier; 2008.
10. Inc. G. [cited 2011 01/06/2011]; Available from: <http://www.google.com.br/imghp?hl=pt-BR&tab=wj>.
11. Schlecht NF, Platt RW, Duarte-Franco E, Costa MC, Sobrinho JP, Prado JC, et al. Human papillomavirus infection and time to progression and regression of cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst*. 2003 Sep 3;95(17):1336-43.
12. Parkin DM, Bray F. Chapter 2: The burden of HPV-related cancers. *Vaccine*. 2006 Aug 31;24 Suppl 3:S3/11-25.
13. Lopo S. Prevalência de HPV em portadoras de HTLV - I. Salvador: Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública; 2005.
14. 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 Sep;8(3):157-64.

15. Mougín C, Dalstein V, Pretet JL, Gay C, Schaal JP, Riethmüller D. [Epidemiology of cervical papillomavirus infections. Recent knowledge]. *Presse Med.* 2001 Jun 9;30(20):1017-23.
16. Syrjänen K, Yliskoski M, Kataja V, Hippeläinen M, Syrjänen S, Saarikoski S, et al. Prevalence of genital human papillomavirus infections in a mass-screened Finnish female population aged 20-65 years. *Int J STD AIDS.* 1990 Nov;1(6):410-5.
17. Trottier H, Mahmud SM, Lindsay L, Jenkins D, Quint W, Wieting SL, et al. Persistence of an incident human papillomavirus infection and timing of cervical lesions in previously unexposed young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009 Mar;18(3):854-62.
18. Tam LS, Chan PK, Ho SC, Yu MM, Yim SF, Cheung TH, et al. Natural history of cervical papilloma virus infection in systemic lupus erythematosus - a prospective cohort study. *J Rheumatol.* 2010 Feb;37(2):330-40.
19. Eustace DL. Systemic lupus erythematosus and uterine cervical neoplasia. *Lupus.* 1994 Feb;3(1):3-4.
20. Brandsma J, Burk RD, Lancaster WD, Pfister H, Schiffman MH. Inter-laboratory variation as an explanation for varying prevalence estimates of human papillomavirus infection. *Int J Cancer.* 1989 Feb 15;43(2):260-2.
21. Chang DY, Hsieh CY, Chen RJ, Lee SC, Huang SC. Comparison of detection of human papillomavirus 16 DNA in cervical carcinoma tissues by Southern blot hybridisation and nested polymerase chain reaction. *J Med Microbiol.* 1995 Dec;43(6):430-5.
22. Vacinação da Mulher, Consenso 2010-11 (2010-11).
23. PREVENTION USDOHAHSCFDCA. 2010; Available from: [www.cdc.gov/mmwr](http://www.cdc.gov/mmwr).
24. Sistêmico CdLE. *Lupus Eritematoso Sistêmico* 2008.
25. [Systemic lupus erythematosus: cutaneous/articular injuries]. *Rev Assoc Med Bras.* 2006 Nov-Dec;52(6):384-6.
26. Blumenfeld Z, Lorber M, Yoffe N, Scharf Y. Systemic lupus erythematosus: predisposition for uterine cervical dysplasia. *Lupus.* 1994 Feb;3(1):59-61.
27. Berthier S, Mougín C, Vercherin P, Desmurs H, Gil H, de Wazieres B, et al. [Does a particular risk associated with papillomavirus infections exist in women with lupus?]. *Rev Med Interne.* 1999 Feb;20(2):128-32.
28. Dhar JP, Kmak D, Bhan R, Pishorodi L, Ager J, Sokol RJ. Abnormal cervicovaginal cytology in women with lupus: a retrospective cohort study. *Gynecol Oncol.* 2001 Jul;82(1):4-6.
29. Nyberg G, Eriksson O, Westberg NG. Increased incidence of cervical atypia in women with systemic lupus erythematosus treated with chemotherapy. *Arthritis Rheum.* 1981 May;24(5):648-50.
30. Santana IU, Gomes AD, Lyrio LD, Rios Grassi MF, Santiago MB. Systemic lupus erythematosus, human papillomavirus infection, cervical pre-malignant and malignant lesions: a systematic review. *Clin Rheumatol.* 2010 Oct 31.
31. Bateman H, Yazici Y, Leff L, Peterson M, Paget SA. Increased cervical dysplasia in intravenous cyclophosphamide-treated patients with SLE: a preliminary study. *Lupus.* 2000;9(7):542-4.
32. Tam LS, Chan AY, Chan PK, Chang AR, Li EK. Increased prevalence of squamous intraepithelial lesions in systemic lupus erythematosus: association with human papillomavirus infection. *Arthritis Rheum.* 2004 Nov;50(11):3619-25.
33. Barros BRC, Matschinske R, Silva MB, Skare TL. Prevalence of abnormal pap smears in patients with systemic lupus erythematosus. *Rev Bras Reumatol.* 2007;47(5):325-9.
34. Liu H, Ding Q, Yang K, Zhang T, Li G, Wu G. Meta-analysis of systemic lupus erythematosus and the risk of cervical neoplasia. *Rheumatology (Oxford).* 2011 Feb;50(2):343-8.
35. Smith EL, Shmerling RH. The American College of Rheumatology criteria for the classification of systemic lupus erythematosus: strengths, weaknesses, and opportunities for improvement. *Lupus.* 1999;8(8):586-95.
36. Demathe A, Bernabé DG, Garcia JF, Nunes CM, Miyahara GI. Comparação entre dois métodos de detecção de DNA de papilomavírus humano em carcinoma epidermoide de lábio. *J Bras Patol Med Lab* vol46 no2 Rio de Janeiro Apr 2010 2010; vol.46 no.2.
37. Nath R, Mant C, Luxton J, Hughes G, Raju KS, Shepherd P, et al. High risk of human papillomavirus type 16 infections and of development of cervical squamous intraepithelial lesions in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Rheum.* 2007 May 15;57(4):619-25.

38. Barber C, Gold WL, Fortin PR. Infections in the lupus patient: perspectives on prevention. *Curr Opin Rheumatol*. 2011 Jul;23(4):358-65.
39. Cuchacovich R, Gedalia A. Pathophysiology and clinical spectrum of infections in systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am*. 2009 Feb;35(1):75-93.
40. Ramos-Casals M, Cuadrado MJ, Alba P, Sanna G, Brito-Zeron P, Bertolaccini L, et al. Acute viral infections in patients with systemic lupus erythematosus: description of 23 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2008 Nov;87(6):311-8.
41. Pugliese A, Beltramo T, Torre D, Roccatello D. Parvovirus B19 and immune disorders. *Cell Biochem Funct*. 2007 Nov-Dec;25(6):639-41.
42. Aslanidis S, Pырpasopoulou A, Kontotasios K, Doumas S, Zamboulis C. Parvovirus B19 infection and systemic lupus erythematosus: Activation of an aberrant pathway? *Eur J Intern Med*. 2008 Jul;19(5):314-8.
43. Su BY, Su CY, Yu SF, Chen CJ. Incidental discovery of high systemic lupus erythematosus disease activity associated with cytomegalovirus viral activity. *Med Microbiol Immunol*. 2007 Sep;196(3):165-70.
44. Pope JE, Krizova A, Ouimet JM, Goodwin JL, Lankin M. Close association of herpes zoster reactivation and systemic lupus erythematosus (SLE) diagnosis: case-control study of patients with SLE or noninflammatory musculoskeletal disorders. *J Rheumatol*. 2004 Feb;31(2):274-9.
45. Kawashiri S, Nakamura H, Kawakami A, Ida H, Izumi Y, Tamai M, et al. Emergence of Epstein-Barr virus-associated haemophagocytic syndrome upon treatment of systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2006;15(1):51-3.
46. Khamaganova IV. [Herpetic infection in patients with lupus erythematosus]. *Ter Arkh*. 1992;64(11):121-3.
47. Kay S, Frable WJ, Hume DM. Cervical dysplasia and cancer developing in women on immunosuppression therapy for renal homotransplantation. *Cancer*. 26(5):1048-52.



## ANEXO I

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Projeto de Pesquisa:** Prevalência da Infecção pelo Papilomavirus Humanos (HPV) em Mulheres Portadoras de Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) avaliando-se o papel dos imunossupressores.

Eu,....., fui convidada a participar da pesquisa acima citada sob a coordenação do Dr Mittermayer Santiago. **O objetivo principal desta pesquisa é investigar se pacientes com lúpus teriam maior frequência de infecção pelo papilomavírus humano (HPV) quando comparadas com uma população sem lúpus.** Para tal fui informada que serei submetida a uma avaliação clínica por um reumatologista do HSI e posteriormente por um ginecologista, que fará um exame ginecológico para coleta de material da região cervicovaginal seguida de uma avaliação laboratorial para diagnóstico citológico, cujos custos serão da responsabilidade do pesquisador. Será também solicitada uma amostra de 10 ml de sangue e outra de urina para a realização de exames como pesquisa de auto-anticorpos e sumário de urina. Para avaliar se doença está em atividade, poderá ser indicada uma avaliação com um oftalmologista. **Riscos e desconforto:** A participação nesta pesquisa não traz riscos de complicações, pois os procedimentos empregados são os de rotina (exame ginecológico e exames de sangue e urina). Assim, a pesquisa obedece aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. **Confidencialidade:** Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente a equipe de pesquisadores terá conhecimento dos dados. Mas em caso de algum teste positivo, você será prontamente informada. **Benefícios:** Além da pesquisa de HPV, o exame ginecológico geral poderá identificar outras condições e assim uma pronta intervenção terapêutica poderá ser indicada.

Ficou claro para mim que caso não concorde em participar voluntariamente da pesquisa não terei qualquer prejuízo, e caso participe, o resultado da pesquisa poderá ser divulgado, mas que minha privacidade será preservada. Fui informada que caso eu necessite de esclarecimentos adicionais eu deverei procurar o Dr. Mittermayer Santiago no Serviço de Reumatologia do HSI pessoalmente ou pelos telefones 33265276 e 88355001. Também fiquei ciente que caso tenha alguma reclamação a fazer, deverei procurar representante legal do CREMEB, localizado à R. Guadalajara n 15, Ondina, tel – 32455200 ou o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Santa Izabel que funciona na Praça Almeida Couto, 500, Nazaré.

Assim, concordo em participar voluntariamente desse estudo.

Salvador, \_\_\_\_/\_\_\_\_/ 200

Nome:

Assinatura: \_\_\_\_\_

## ANEXO II

### QUESTIONÁRIO ESTRUTURADO

Nome: \_\_\_\_\_ Matrícula: \_\_\_\_\_

1. Idade: \_\_\_\_\_ anos
2. Cor: branca ( ) parda ( ) negra ( )
3. Renda familiar: \_\_\_\_\_
4. Escolaridade \_\_\_\_\_
5. Data da coleta do exame: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
6. Início de vida sexual aos \_\_\_\_\_ anos
7. Nº de parceiros: \_\_\_\_\_
8. Data do último CCM: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ DUM \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
9. Paridade: G \_\_\_\_ P \_\_\_\_ A \_\_\_\_
10. Método anticoncepcional: sim ( ) não ( ) Qual \_\_\_\_\_
11. Cirurgias prévias: \_\_\_\_\_
12. Uso atual de drogas imunossupressoras, incluindo corticóide e cloroquina: sim ( ) não ( )  
Tipo \_\_\_\_\_ Dose \_\_\_\_\_ Tempo de uso \_\_\_\_\_  
Tipo \_\_\_\_\_ Dose \_\_\_\_\_ Tempo de uso \_\_\_\_\_  
Tipo \_\_\_\_\_ Dose \_\_\_\_\_ Tempo de uso \_\_\_\_\_
13. Uso prévio de drogas imunossupressoras, incluindo corticóide e cloroquina: sim ( ) não ( )  
Tipo \_\_\_\_\_ Dose \_\_\_\_\_ Tempo de uso \_\_\_\_\_  
Tipo \_\_\_\_\_ Dose \_\_\_\_\_ Tempo de uso \_\_\_\_\_  
Tipo \_\_\_\_\_ Dose \_\_\_\_\_ Tempo de uso \_\_\_\_\_  
Tipo \_\_\_\_\_ Dose \_\_\_\_\_ Tempo de uso \_\_\_\_\_  
Tipo \_\_\_\_\_ Dose \_\_\_\_\_ Tempo de uso \_\_\_\_\_
14. Tabagismo: sim ( ) não ( )
15. História de DST: Especificar \_\_\_\_\_
16. Uso prévio de anticoncepcional oral. Sim ( ) não ( )
17. Diagnóstico citológico da lesão cervical prévia. Sim ( ) não ( )
19. Diagnóstico citológico cervicovaginal atual: \_\_\_\_\_
20. Presença de HPV: Sim( ) não ( ). Tipo \_\_\_\_\_
21. Diagnóstico anátomo-patológico: \_\_\_\_\_
22. Critérios de classificação de LES
23. Co-infecções: HIV ( ) HTLV-I ( ) HCV ( )

## ANEXO III

### CARTA DE APROVAÇÃO DO ESTUDO EMITIDO PELO CEP



**HOSPITAL SANTA IZABEL**  
SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DA BAHIA

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**  
**PROF. DR. CELSO FIGUEIRÔA**  
**HOSPITAL SANTA IZABEL**

Salvador, 29 de julho de 2008.

#### 1. IDENTIFICAÇÃO DO PROJETO

**TÍTULO DA PESQUISA:** "Prevalência da Infecção pelo Papilomavírus Humano em Mulheres portadoras de Lúpus Eritematoso Sistêmico".

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Dr. Mittermayer Santiago

**INSTITUIÇÃO:** Hospital Santa Izabel

**CARGO:** Médico

#### 2. PARECER DO RELATOR

##### *ASPECTOS TÉCNICOS*

*HIPÓTESE: Portadoras de lúpus eritematoso sistêmico (LES) têm uma maior prevalência de esfregaço anormal da cérvice uterina.*

*OBJETIVO: Estabelecer a prevalência de esfregaço citológico anormal da cérvice uterina em pacientes portadoras de LES e determinar se o LES por si só é um fator de risco independente. Secundariamente, avaliar a associação da infecção pelo HPV e o uso de drogas imunossupressoras naquelas pacientes com amostra cervical anormal.*

*METODOLOGIA DO ESTUDO: Apresenta uma correta exposição do desenho de estudo, seleção de pacientes, métodos de avaliação e plano de análise estatística.*

##### *POTÊNCIAIS RISCOS*

*O presente estudo não apresenta riscos adicionais aos pacientes.*

##### *CRONOGRAMA*

*Bem estabelecido.*



**HOSPITAL SANTA IZABEL**  
SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DA BAHIA

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**  
**PROF. DR. CELSO FIGUEIRÔA**  
**HOSPITAL SANTA IZABEL**

**PROVAVÉIS BENEFÍCIOS**

*Poderá estabelecer uma correlação entre a prevalência de esfregaço anormal do colo uterino em pacientes portadoras de LES e determinar se o LES por si não é um fator de risco independente além de estabelecer uma associação da infecção do HPV e o uso de drogas imunossupressoras naquelas com amostra cervical anormal.*

**ASPECTOS ÉTICOS**

*O presente estudo está de acordo com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o Termo de consentimento livre e esclarecido encontra-se satisfatório e esclarecedor.*

**PARECER FINAL**

*O presente estudo não alterará as rotinas das pacientes e não implicará em prejuízos aos mesmos. Existe obediência às legislações vigentes e trará informações úteis para o esclarecimento etiológico da doença. Portanto emito parecer favorável à aprovação deste projeto.*

**3. PARECER DO CEP**

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Santa Izabel, acatando o parecer do relator designado para o referido protocolo, em uso de suas atribuições, **aprova** o Projeto de Pesquisa supracitado, estando o mesmo de acordo com as Resoluções 196/96 e 251/97.

**PROJETO APROVADO**

*Cordialmente,*

**Prof. Dr. Jedson dos Santos Nascimento**  
Vice Coordenador Comitê de Ética em Pesquisa Prof. Dr. Celso Figueirôa  
Hospital Santa Izabel

---

Pça Almeida Couto, 500 CEP 40050-410 Salvador-BA Tel: (71)326-8444 Fax: (71)326-8494  
CGC.15.153.745/0002-49

## ANEXO IV

### ARTIGO A SER SUBMETIDO

#### PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO CERVICAL PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM MULHERES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO.

Leomar D'C.Lyrrio<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Fernanda R.Grassi<sup>2</sup>, Iuri U. Santana<sup>1</sup>, Viviana G.Olavarria<sup>1</sup>, Aline do N.Gomes<sup>1</sup>, Licia C. Pinto<sup>1</sup>, Rone Peterson C. Oliveira<sup>1</sup>, Rita de Cássia R. Aquino<sup>1</sup>, Mittermayer B.Santiago<sup>3</sup>.

1) Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, Bahia, Brasil

2) Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz/Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia, Brasil

3) Serviços especializados em Reumatologia (SER) da Bahia, Brasil

#### Correspondência:

Mittermayer B. Santiago. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Rua Frei Henrique, 08, Nazaré, Salvador, Bahia, Brazil. CEP 40.000-000. [mitter@svn.com.br](mailto:mitter@svn.com.br)

#### ABSTRACT

**Background:** Genital infection by Human Papillomavirus (HPV) tends to occur more frequently in patients with conditions associated with immune suppression. Systemic lupus erythematosus (SLE) is an immunological disorder, characterized by generalized inflammation and a diversity of clinical manifestations and circulating autoantibodies. The aim of the present study was to determine the prevalence of genital HPV infection in SLE patients. **Methods:** Consecutives SLE patients attending the rheumatology outpatient clinic at Escola Bahiana de Medicina and Saude Publica, Salvador, Bahia were included in the study. The diagnostic of SLE was based on the the American College of Rheumatology

criteria. As a comparison group clinically healthy women, attending the gynecology outpatient clinic for routine examination at the same institution were recruited. Cervical HPV infection was searched by nested polymerase chain reaction technique (n-PCR). **Results:** Eighty eight SLE female patients with a mean age of 41.4±11.6 years and 70 healthy female subjects (control group) were studied. The prevalence of HPV infection was 80.7% (71/88) in SLE and 35.7% (25/70) in control group (**p <0.0001**). After adjustment of the variables age, early sexual activity, number of partners and obstetric history the odds ratio (OR) for genital HPV infection in women with SLE was 7.2 (95% CI 2.9 to 17.8, **p = 0.0001**) The use of immunosuppressive drugs was not associated with higher frequency of HPV infection. **Conclusion:** This study demonstrated that SLE patients have a higher prevalence of genital HPV infection, even when exposed to less potential risk factors for this virus.

**Key words:** 1. Human papillomavirus; 2. Systemic lupus erythematosus; 3. PCR; 4. Immunosuppression; 5. Cervical cancer.

## **INTRODUÇÃO**

O Papilomavírus Humano (HPV) constitui um grupo de DNA vírus da família *papoviridae*. Mais de 200 tipos de HPV podem infectar o homem, sendo a região anogenital a mais comumente atingida (1). Este tipo de vírus divide-se em dois grupos: HPV de baixo potencial oncogênico, representado principalmente pelos tipos 06 e 11 e HPV de alto potencial oncogênico, destacando-se os tipos 16 e 18. Estudo de caso-controle confirma que o HPV/DNA pode ser detectado em 99,7% em mulheres com câncer cervical confirmado histologicamente quando comparado com 13,4% dos controles (7). A presença do HPV é condição necessária, mas não suficiente para o desenvolvimento do câncer cervical (48).

Os potenciais fatores de risco para infecção cervical pelo HPV são: idade entre 20 e 24 anos, início de vida sexual precoce, múltiplos parceiros sexuais, tabagismo, gravidez, estado

nutricional, doenças sexualmente transmissíveis (DSTs) prévias como herpes genital e a *Chlamydia trachomatis* (3, 4). A imunossupressão é também um fator de risco importante. (5, 6)

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica, sistêmica, de causa desconhecida, natureza autoimune, caracterizada por uma diversidade de manifestações clínicas e pela presença de diferentes autoanticorpos. Embora possa ocorrer em qualquer idade, é mais freqüente entre 20 e 45 anos com maior incidência por volta dos 30 anos, afeta 10 a 12 vezes mais o sexo feminino do que o masculino. Indivíduos com LES geralmente são imunodeprimidos pela própria doença ou pelo uso de medicações que inibem o sistema imunológico (6). Assim, os mecanismos normais de defesa contra vírus oncogênicos estão comprometidos em tais pacientes e teoricamente há um aumento do risco de alterações cervicais nestas pacientes. O objetivo do presente estudo foi determinar a prevalência da infecção cervical pelo HPV e avaliar a presença de lesões cervicais em mulheres com LES comparado a um grupo de mulheres clinicamente saudáveis.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Estudo de prevalência da infecção cervical pelo HPV, em mulheres portadoras de LES, do tipo corte seccional de diagnóstico analítico.

Um grupo de mulheres com diagnóstico de LES e um grupo de comparação constituído de mulheres clinicamente saudáveis acompanhadas nos ambulatórios de reumatologia e ginecologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, foram incluídas no estudo. O diagnóstico de LES baseou-se nos critérios do *American College of Rheumatology* (ACR) (35). Os critérios de inclusão foram idade superior a 18 anos e vida sexual ativa. Foram excluídas pacientes com alterações psiquiátricas, submetidas à histerectomia total, gestantes.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Professor Dr. Celso Figueirôa - Hospital Santa Izabel. Todas as pacientes ou responsáveis assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes de aderirem ao estudo.

As pacientes responderam a um questionário estruturado, avaliando-se aspectos sócio-demográficos, comportamentais, reumatológicos, ginecológicos e obstétricos. Posteriormente, as pacientes foram submetidas a um exame ginecológico completo, incluindo colposcopia e coleta de material para a pesquisa de HPV. Os exames citológicos foram interpretados segundo a classificação de Bethesda 2001 (4): 1) Dentro dos limites de normalidades; 2) Células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS), células glandulares de significado indeterminado (AGUS). 3) Alterações celulares sugerindo: a) lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LIEBG) b) lesão intraepitelial escamosa de alto grau (LIEAG) e c) carcinoma invasor.

As pacientes foram examinadas por um dos investigadores, analisando em particular as alterações cervicais, utilizando-se de um aparelho colposcópico DF Vasconcelos. Os achados colposcópicos anormais foram categorizados como ZTA: pontilhado, mosaico, vasos atípicos, epitélio aceto branco (eab) e zona iodo negativa (zin) (8) As amostras citológicas foram colhidas da ecto e da endocervice, para pesquisa do HPV, utilizando-se *swabs* estéreis específicos (J. Prolab®, Brasil). A amostra cervical foi transportada em meio a 400µl de TE [10mM Tris-HCl pH 8.0 e 1mM ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA)] e armazenada à -20°C.

A extração de DNA foi realizada utilizando-se o kit comercial Qiamp DNA Mini Kit® (QIAGEN, Alemanha), de acordo com protocolo do fabricante. As amostras foram congeladas em -20°C até o momento da utilização. Estas amostras foram submetidas à



análise pela técnica de *polymerase chain reaction* (PCR) no laboratório Avançado em Saúde Pública (LASP) da FIOCRUZ em Salvador-Bahia.

Para reação de amplificação do DNA do HPV, utilizou-se a técnica de *nested*-PCR (n-PCR) modificada de acordo com estudo desenvolvido, em 2010, por Demathe *et al* que realizaram a comparação entre dois métodos de detecção de DNA de HPV em carcinoma epidermoide de lábio (36). Para o primeiro *round*, utilizou-se o par de *primer* consensual MY09/11, capaz de amplificar um fragmento de 450 pares de bases dirigido a região conservada da proteína viral L1, cuja sequência é: MY09 5' – CGTCCMARRGGAWACTGATC 3' e MY11 5' – GCMCAGGGWCATAAYAATGG - 3'. No segundo *round*, utilizou-se o par de *primer* consensual GP5+/GP6+ para amplificação de fragmento de 150 pares de bases, dirigido a uma região contida no fragmento de 450 pares de bases previamente amplificada. A reação de amplificação utilizou um sistema habitual para cada reação, contendo um volume final de 12,5µl. A reação do primeiro *round* foi composta por 1,25µl de Buffer (10x); 0,4µl de MgCl<sub>2</sub> (50mM); 2µl de dNTPs (1,25mM); 0,3µl de Taq DNA Polimerase (5U/µl); 1µl de cada *primer* MY09 e MY11 (10 pmol/µl); 5,5µl de água livre de RNAase; 1µl de DNA molde (em média 50-100ng/µl). A amplificação foi realizada em termociclador Applied Biosystems Veriti™ Thermal Cycler, com a seguinte ciclagem de temperaturas: aquecimento inicial a 94°C durante 1 minuto; 40 ciclos de desnaturação a 95°C durante 1 minuto, anelamento a 55°C durante 1 minuto e extensão a 72°C durante 1 minuto, seguido de extensão final por 72°C por 5 minutos. O segundo *round* foi realizado utilizando Top Taq Master Mix Kit (QIAGEN, Alemanha), sendo composta por 6,5µl de *TopTaq Master Mix* (2x); 1,3µl de cada *primer* GP5+/GP6+ (50pmol/µl); 1,3µl de *Coral Load Concentrate* (10x); 1,1µl de água livre de RNAase; 1µl do resultado de PCR do primeiro *round*. A amplificação foi realizada em termociclador Applied Biosystems Veriti™ Thermal Cycler, com a seguinte ciclagem de temperaturas: aquecimento inicial a 94°C durante 4 minutos; 35 ciclos de desnaturação a

94°C durante 1 minuto, anelamento a 40°C durante 2 minutos e extensão a 72°C durante 1 minuto e meio, seguido de extensão final por 72 °C por 4 minutos. Para evitar resultados falso-negativos um PCR adicional foi realizado utilizando o par de *primers* da proteína humana  $\beta$ -globina capaz de amplificar uma região de 268 pares de bases, capaz de garantir a adequabilidade do DNA extraído. Para visualizar o produto do PCR foi realizada eletroforese em gel de agarose (2%) e corados com brometo de etídio. Os controles positivos e negativos foram amostras analisadas pelo kit cobas® 4800 HPV Test, cedidas pelo laboratório DNA, Salvador – Bahia, acrescida de um controle interno negativo, elaborado com os mesmos reagentes, substituindo-se o DNA molde por água.

O intervalo de confiança (IC) de 95% foi estabelecido para estimar a prevalência de HPV nessa população e o valor de  $p \leq 0,05$  foi admitido para se considerar significância estatística. As variáveis categóricas foram expressas em valores absolutos e percentuais e as quantitativas descritas em média e desvio-padrão. O teste do Qui-quadrado de Pearson e o teste exato de Fischer foram utilizados para comparação de variáveis categóricas entre dois grupos. O teste t-Student foi utilizado para comparação de variáveis contínuas também entre dois grupos, considerando-se a distribuição paramétrica das amostras estudadas, confirmada pelo histograma e pela congruência entre a média e mediana. Investigou-se a associação entre LES e infecção pelo HPV, levando-se em conta os potenciais fatores de risco já conhecidos para infecção genital por este vírus. Determinou-se a razão de chance ou *odds ratio* (OR) ajustando as variáveis que apresentaram pelo menos moderada associação com a infecção pelo HPV. A análise estatística foi realizada utilizando-se o software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versão 17.0.

## RESULTADOS

O grupo LES foi constituído de 88 pacientes com a média de idade de 41,4±11,6 anos, que foi superior a do grupo controle que foi constituído de 70 mulheres saudáveis (29,0±5,9 anos) ( $p<0,0001$ ). Do mesmo modo, a média de idade da primeira relação sexual foi de 19,9±4,9 anos nas pacientes com LES e 17,6±4,1 anos nas mulheres do grupo controle ( $p=0,002$ ). O número de parceiros sexuais foi discretamente inferior para as mulheres com LES (2,8±2,2), comparadas as do grupo controle (3,79±4,5), no entanto essa diferença não foi estatisticamente significativa. A prevalência de infecção cervical pelo HPV foi de 80,7% (71/88) no grupo com LES e de 35,7% (25/70) no grupo controle ( $p<0,0001$ ) (tabela 1). O *odds ratio* para infecção pelo HPV em mulheres com LES foi 7,1 (IC 95%; 2,9-17,7;  $p = 0,0001$ ) após ajuste das variáveis: faixa etária, início de vida sexual, número de parceiros, uso de preservativos e história obstétrica (Tabela 2).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos no que se refere às alterações citológicas: LIEBG, LIEAG e ASCUS. No entanto, observou-se menor frequência de resultados citopatológicos normais no grupo LES 1/71 (1,4%) em relação ao grupo controle 5/25 (20%);  $p<0,0004$  (Tabela 3). Em relação aos fatores de risco associados a infecção cervical pelo HPV no grupo de pacientes com LES, o uso de preservativo foi menor no grupo de pacientes com infecção cervical por HPV (9,9%), comparado ao grupo não infectado HPV-negativo (29,4%);  $p=0,03$ . Não houve diferença estatisticamente significativa em relação a idade da primeira relação sexual, número de parceiros, tempo de diagnóstico de LES ou uso de imunossuppressores (definido como o uso em algum período da doença de qualquer dos imunossuppressores azatioprina, ciclofosfamida, ciclosporina e micofenolato mofetil ou sódico) (Tabela 4). No entanto, achados colposcópicos anormais foram mais frequentes nas mulheres com LES infectadas pelo HPV

em uso de imunossupressores 12 (24,5%) comparadas àquelas, com que não faziam uso de imunossupressores 1 (4,5%)  $p=0,05$  (Tabela 5).

## **DISCUSSÃO**

Os dados da literatura demonstram de forma consistente que mulheres com LES apresentam risco elevado para o desenvolvimento de alterações citológicas cervicais (28, 32, 33). No entanto, poucos estudos confirmaram o diagnóstico molecular da infecção cervical pelo HPV (32, 37). A infecção pelo HPV pode preceder o desenvolvimento de alterações citológicas por anos, sendo a persistência tecidual do vírus um importante fator de risco para a progressão das alterações celulares.

O presente estudo demonstrou uma maior prevalência de infecção cervical pelo HPV em mulheres com LES, quando comparadas com mulheres clinicamente saudáveis, apesar da menor exposição destas aos fatores de risco potenciais para infecção pelo HPV (maior média de idade e de início de vida sexual e menor número de parceiros sexuais que o grupo controle). Em um modelo de regressão logística multivariado, a presença do LES mostrou-se como um preditor independente para infecção pelo HPV. A prevalência de infecção cervical de HPV em mulheres com LES encontrada foi maior que a descrita na literatura. Tam *et al.*, na China observaram uma prevalência de 11,8% (32). Adicionalmente, Nath *et al.* em 2007, no Reino Unido, evidenciaram uma prevalência de 54% (37). Esta diferença pode ser atribuída às técnicas diagnósticas utilizadas. Nos referidos estudos a infecção pelo HPV foi demonstrada por PCR simples, utilizando-se somente um par de *primer* consensual. No presente estudo, utilizou-se a técnica de n-PCR, na qual se combinam dois diferentes pares de *primers* consensuais. A vantagem desta última técnica consiste no aumento substancial de sensibilidade (8, 36). Porém, não se exclui a contribuição de fatores genéticos ainda não definidos, das diversas populações estudadas.

As mulheres com LES apresentam maior predisposição para infecção por diferentes agentes etiológicos em relação à população clinicamente saudável (38). Esta maior susceptibilidade pode ser explicada pelas diversas alterações intrínsecas da doença, associada ao uso de terapia imunossupressora (39). Pacientes com LES possuem defeitos nos mecanismos envolvidos com a resposta imune inata, como ativação inapropriada de *toll-like receptors* para antígenos próprios, diminuição do *clearance* de corpos apoptóticos, deficiência de lecitina ligadora de manose e déficit em componentes do sistema complemento. Adicionalmente, possuem também diversas alterações da resposta imune adaptativa, com perda da autotolerância de linfócitos T e B e produção de diversos autoanticorpos contra antígenos próprios, além de menor produção de determinadas citocinas. Estas alterações imunológicas estão associadas com risco elevado de infecções bacterianas. Do mesmo modo, diversos tipos de infecções virais também parecem ser mais comuns nestes pacientes (40), como é o caso das infecções por Parvovirus B19 (41, 42), citomegalovírus (43), vírus varicela-zóster (44), vírus Epstein-Barr (45) e vírus herpes simplex (46). Estes distúrbios imunológicos também parecem se associar com maior risco de infecção cervical pelo HPV, com maior persistência tecidual e desenvolvimento de lesões malignas. Assim, pressupõe-se que a infecção cervical pelo HPV nestas pacientes tende a se resolver espontaneamente com menor frequência do que nas mulheres saudáveis. Em relação aos imunossupressores ainda não há consenso na literatura se o uso destas drogas estaria associado a uma maior prevalência de infecção cervical pelo HPV em mulheres com LES. Alguns estudos associam o uso da azatioprina (29) e da ciclofosfamida (6, 31) e uma maior prevalência de infecção cervical em mulheres com LES. O mesmo foi observado em pacientes não lúpicas em uso de azatioprina, submetidas a transplante renal (47). Entretanto tal associação não foi observada por outros autores (32, 33). No presente estudo o uso de imunossupressores não foi associado a uma maior prevalência de infecção cervical pelo HPV

nas mulheres com LES. No entanto, naquelas com infecção pelo HPV e em uso de imunossupressores observou-se uma maior frequência de achados colposcópicos anormais, comparadas àquelas que não faziam uso de imunossupressores. A alta prevalência de infecção cervical de HPV em mulheres com LES no presente estudo sugere fortemente que as alterações imunológicas inerentes à própria doença e a ação imunossupressora das drogas sejam os fatores predisponentes para a infecção cervical. Estes resultados devem ser interpretados com cautela, pois o número de pacientes com LES que não usava imunossupressores foi relativamente pequeno. Adicionalmente, o desenho do estudo, do tipo corte transversal, não permite o acompanhamento das pacientes e a eventual evolução para câncer cervical. Por outro lado, o fato de estar usando ou ter usado imunossupressor não determina o grau de imunossupressão do indivíduo, sendo assim, estudos longitudinais devem ser conduzidos com um maior número amostral para identificação do curso clínico da doença, levando-se em conta o tipo de droga, a dose, o tempo de uso e o seu reflexo no número, tipo e função das células do sistema imune deve ser realizado.

Em conclusão, os resultados obtidos indicam que as mulheres com LES têm maior prevalência de infecção cervical pelo HPV que o grupo controle. Esta alta prevalência foi encontrada a despeito destas mulheres terem sido expostas a menos potenciais fatores de risco. Desta forma recomendamos que as lúpicas tenham uma avaliação ginecológica regular, com intervalos mais curtos de tempo do que a população em geral. Adicionalmente, o uso profilático de vacinas para HPV poderia ser uma ferramenta válida para estas pacientes. Estudos são necessários para definir os subtipos envolvidos na infecção cervical nesse grupo de pacientes e se a eficácia das vacinas poderia ser modificada em vigência de imunossupressão imposta pela doença e/ou pelas drogas utilizadas para o seu tratamento.

## ACKNOWLEDGEMENTS

M.S. receives a scholarship from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico(CNPq).

## CONFLICT OF INTEREST

The authors have no conflict of interest that is directly relevant to the content of this Manuscript.

## REFERÊNCIAS

1. MS. Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero - atualização 2011. Rio de Janeiro 2011; Available from: [www.inca.gov.br](http://www.inca.gov.br).
2. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003 Feb 6;348(6):518-27.
3. MS. Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero - atualização 2011. 2011.
4. Carvalho NSd, editor. Patologia do Trato Genital Inferior e colposcopia. São Paulo: Livraria Atheneu; 2010.
5. Bernatsky S, Ramsey-Goldman R, Gordon C, Joseph L, Boivin JF, Rajan R, et al. Factors associated with abnormal Pap results in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2004 Nov;43(11):1386-9.
6. Ognenovski VM, Marder W, Somers EC, Johnston CM, Farrehi JG, Selvaggi SM, et al. Increased incidence of cervical intraepithelial neoplasia in women with systemic lupus erythematosus treated with intravenous cyclophosphamide. *J Rheumatol*. 2004 Sep;31(9):1763-7.
7. Munoz N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. *J Clin Virol*. 2000 Oct;19(1-2):1-5.
8. Freitas TP, Carmo BB, Paula FD, Rodrigues LF, Fernandes AP, Fernandes PA. Molecular detection of HPV 16 and 18 in cervical samples of patients from Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2007 Sep-Oct;49(5):297-301.
9. Apgar BS. Colposcopy Principles and Practice. Second edition ed: Saunders Elsevier; 2008.
10. Inc. G. [cited 2011 01/06/2011]; Available from: <http://www.google.com.br/imghp?hl=pt-BR&tab=wi>.
11. Schlecht NF, Platt RW, Duarte-Franco E, Costa MC, Sobrinho JP, Prado JC, et al. Human papillomavirus infection and time to progression and regression of cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst*. 2003 Sep 3;95(17):1336-43.
12. Parkin DM, Bray F. Chapter 2: The burden of HPV-related cancers. *Vaccine*. 2006 Aug 31;24 Suppl 3:S3/11-25.
13. Lopo S. Prevalência de HPV em portadoras de HTLV - I. Salvador: Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública; 2005.
14. 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 Sep;8(3):157-64.
15. Mougin C, Dalstein V, Pretet JL, Gay C, Schaal JP, Riethmuller D. [Epidemiology of cervical papillomavirus infections. Recent knowledge]. *Presse Med*. 2001 Jun 9;30(20):1017-23.
16. Syrjanen K, Yliskoski M, Kataja V, Hippelainen M, Syrjanen S, Saarikoski S, et al. Prevalence of genital human papillomavirus infections in a mass-screened Finnish female population aged 20-65 years. *Int J STD AIDS*. 1990 Nov;1(6):410-5.

17. Trottier H, Mahmud SM, Lindsay L, Jenkins D, Quint W, Wieting SL, et al. Persistence of an incident human papillomavirus infection and timing of cervical lesions in previously unexposed young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009 Mar;18(3):854-62.
18. Tam LS, Chan PK, Ho SC, Yu MM, Yim SF, Cheung TH, et al. Natural history of cervical papilloma virus infection in systemic lupus erythematosus - a prospective cohort study. *J Rheumatol.* 2010 Feb;37(2):330-40.
19. Eustace DL. Systemic lupus erythematosus and uterine cervical neoplasia. *Lupus.* 1994 Feb;3(1):3-4.
20. Brandsma J, Burk RD, Lancaster WD, Pfister H, Schiffman MH. Inter-laboratory variation as an explanation for varying prevalence estimates of human papillomavirus infection. *Int J Cancer.* 1989 Feb 15;43(2):260-2.
21. Chang DY, Hsieh CY, Chen RJ, Lee SC, Huang SC. Comparison of detection of human papillomavirus 16 DNA in cervical carcinoma tissues by Southern blot hybridisation and nested polymerase chain reaction. *J Med Microbiol.* 1995 Dec;43(6):430-5.
22. Vacinação da Mulher, Consenso 2010-11 (2010-11).
23. PREVENTION USDOHAHSCFDCA. 2010; Available from: [www.cdc.gov/mmwr](http://www.cdc.gov/mmwr).
24. Sistêmico CdLE. *Lupus Eritematoso Sistêmico* 2008.
25. [Systemic lupus erythematosus: cutaneous/articular injuries]. *Rev Assoc Med Bras.* 2006 Nov-Dec;52(6):384-6.
26. Blumenfeld Z, Lorber M, Yoffe N, Scharf Y. Systemic lupus erythematosus: predisposition for uterine cervical dysplasia. *Lupus.* 1994 Feb;3(1):59-61.
27. Berthier S, Mougin C, Vercherin P, Desmurs H, Gil H, de Wazieres B, et al. [Does a particular risk associated with papillomavirus infections exist in women with lupus?]. *Rev Med Interne.* 1999 Feb;20(2):128-32.
28. Dhar JP, Kmak D, Bhan R, Pishorodi L, Ager J, Sokol RJ. Abnormal cervicovaginal cytology in women with lupus: a retrospective cohort study. *Gynecol Oncol.* 2001 Jul;82(1):4-6.
29. Nyberg G, Eriksson O, Westberg NG. Increased incidence of cervical atypia in women with systemic lupus erythematosus treated with chemotherapy. *Arthritis Rheum.* 1981 May;24(5):648-50.
30. Santana IU, Gomes AD, Lyrio LD, Rios Grassi MF, Santiago MB. Systemic lupus erythematosus, human papillomavirus infection, cervical pre-malignant and malignant lesions: a systematic review. *Clin Rheumatol.* 2010 Oct 31.
31. Bateman H, Yazici Y, Leff L, Peterson M, Paget SA. Increased cervical dysplasia in intravenous cyclophosphamide-treated patients with SLE: a preliminary study. *Lupus.* 2000;9(7):542-4.
32. Tam LS, Chan AY, Chan PK, Chang AR, Li EK. Increased prevalence of squamous intraepithelial lesions in systemic lupus erythematosus: association with human papillomavirus infection. *Arthritis Rheum.* 2004 Nov;50(11):3619-25.
33. Barros BRC, Matschinske R, Silva MB, Skare TL. Prevalence of abnormal pap smears in patients with systemic lupus erythematosus. *Rev Bras Reumatol.* 2007;47(5):325-9.
34. Liu H, Ding Q, Yang K, Zhang T, Li G, Wu G. Meta-analysis of systemic lupus erythematosus and the risk of cervical neoplasia. *Rheumatology (Oxford).* 2011 Feb;50(2):343-8.
35. Smith EL, Shmerling RH. The American College of Rheumatology criteria for the classification of systemic lupus erythematosus: strengths, weaknesses, and opportunities for improvement. *Lupus.* 1999;8(8):586-95.
36. Demathe A, Bernabé DG, Garcia JF, Nunes CM, Miyahara GI. Comparação entre dois métodos de detecção de DNA de papilomavírus humano em carcinoma epidermoide de lábio. *J Bras Patol Med Lab* vol46 no2 Rio de Janeiro Apr 2010 2010; vol.46 no.2.
37. Nath R, Mant C, Luxton J, Hughes G, Raju KS, Shepherd P, et al. High risk of human papillomavirus type 16 infections and of development of cervical squamous intraepithelial lesions in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Rheum.* 2007 May 15;57(4):619-25.
38. Barber C, Gold WL, Fortin PR. Infections in the lupus patient: perspectives on prevention. *Curr Opin Rheumatol.* 2011 Jul;23(4):358-65.
39. Cuchacovich R, Gedalia A. Pathophysiology and clinical spectrum of infections in systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am.* 2009 Feb;35(1):75-93.



40. Ramos-Casals M, Cuadrado MJ, Alba P, Sanna G, Brito-Zeron P, Bertolaccini L, et al. Acute viral infections in patients with systemic lupus erythematosus: description of 23 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2008 Nov;87(6):311-8.
41. Pugliese A, Beltramo T, Torre D, Roccatello D. Parvovirus B19 and immune disorders. *Cell Biochem Funct*. 2007 Nov-Dec;25(6):639-41.
42. Aslanidis S, Pyrpasopoulou A, Kontotasios K, Doumas S, Zamboulis C. Parvovirus B19 infection and systemic lupus erythematosus: Activation of an aberrant pathway? *Eur J Intern Med*. 2008 Jul;19(5):314-8.
43. Su BY, Su CY, Yu SF, Chen CJ. Incidental discovery of high systemic lupus erythematosus disease activity associated with cytomegalovirus viral activity. *Med Microbiol Immunol*. 2007 Sep;196(3):165-70.
44. Pope JE, Krizova A, Ouimet JM, Goodwin JL, Lankin M. Close association of herpes zoster reactivation and systemic lupus erythematosus (SLE) diagnosis: case-control study of patients with SLE or noninflammatory musculoskeletal disorders. *J Rheumatol*. 2004 Feb;31(2):274-9.
45. Kawashiri S, Nakamura H, Kawakami A, Ida H, Izumi Y, Tamai M, et al. Emergence of Epstein-Barr virus-associated haemophagocytic syndrome upon treatment of systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2006;15(1):51-3.
46. Khamaganova IV. [Herpetic infection in patients with lupus erythematosus]. *Ter Arkh*. 1992;64(11):121-3.
47. Kay S, Frable WJ, Hume DM. Cervical dysplasia and cancer developing in women on immunosuppression therapy for renal homotransplantation. *Cancer*. 26(5):1048-52.
48. Smith EL, Shmerling RH. The American College of Rheumatology criteria for the classification of systemic lupus erythematosus: strengths, weaknesses, and opportunities for improvement. *Lupus*. 1999;8(8):586-95.

**Tabela 1.** Características sócio-demográficas, antecedentes sexuais e prevalência de HPV cervical em pacientes com LES e das mulheres clinicamente saudáveis

	Grupo LES (n=88)	Grupo controle (n=70)	Valor de p
Idade (anos)	41,4±11,6	29,0±5,9	< 0,0001
Renda familiar			0,35
Até 1 salário	49 (54,4%)	33 (47,1%)	
2 ou mais salários	41 (45,6%)	37 (52,9%)	
Escolaridade*			0,26
Abaixo ou igual a 8 anos	35 (41,7%)	24 (34,3%)	
Entre 8 e 11 anos	39 (46,4%)	31 (44,3%)	
A partir de 12 anos	10 (11,9%)	15 (21,4%)	
Início de vida sexual (anos)	19,9±4,9	17,6±4,1	0,002
Número de parceiros	2,8±2,2	3,79±4,5	0,09
Paridade	1,7±1,9	1,3±1,2	0,11
Abortamentos	0,7±1,1	0,5±0,9	0,37
Uso de preservativo	14(15,6%)	12(17,1%)	0,78
Infecção por HPV*	71 (80,7%)	25 (35,7%)	< 0,0001

Dados apresentados como média e desvio-padrão para variáveis contínuas e n (%) para variáveis categóricas.

\*Resultado para grupo LES com n=84. **Abreviações:** LES: Lúpus eritematosos sistêmico.

**Tabela 2.** *Odds ratio* ajustado para potenciais fatores de risco para infecção por HPV.

Variáveis	OR ajustado	IC 95%	Valor de p
LES	7,1	2,9-17,7	< 0,0001
Idade	1,0	0,9-1,0	0,55
Início de vida sexual	0,9	0,8-1,0	0,51
Número de parceiros	0,9	0,8-1,1	0,87
Uso de preservativos	0,5	0,2-1,6	0,31
Paridade	0,8	0,6-1,1	0,28

**Abreviações:** LES: Lúpus eritematoso sistêmico; IC: Intervalo de confiança; OR: Odds ratio.

**Tabela 3.** Achados colpocitológicos e colposcópicos em pacientes com LES e mulheres clinicamente saudáveis com infecção cervical por HPV

	Grupo LES (n= 71)	Grupo controle (n= 25)	P
LIEBG	11 (15,5%)	2 (8,0%)	0.50
LIEAG	3 (4,2%)	0 (0%)	0.56
PI	48 (67,6%)	18 (72,0%)	0.68
Normal	1 (1,4%)	5 (20%)	<b>0.004</b>
ASCUS	3 (4,2%)	0 (0%)	0.56
Achados colposcópicos anormais	13 (18,3%)	3 (12%)	0.22

Dados apresentados como n (%) para variáveis categóricas.

\* Resultado para grupo LES com n=88.

**Abreviações:** LIEBG: Lesão intraepitelial de baixo grau; LIEAG: Lesão intraepitelial de alto grau; PI: Processo inflamatório; ASCUS: Células escamosas atípicas de significado indeterminado; LES: Lúpus eritematoso sistêmico; HPV: Papilomavírus humano.

**Tabela 4.** Possíveis fatores de risco para infecção pelo HPV em pacientes com LES

	HPV infected (n=71)	HPV uninfected (n=17)	p
Idade	42,1±12,3	40,2±5,9	0,55
Renda familiar			0,96
Até 1 salário	38 (53,5%)	9 (52,9%)	
2 ou mais salários	33 (46,5%)	8 (47,1%)	
Escolaridade*			0,62
Abaixo ou igual a 8 anos	30 (44,1%)	5 (31,3%)	
Entre 8 e 11 anos	30 (44,1%)	9 (56,3%)	
A partir de 12 anos	8 (11,8%)	2 (12,5%)	
Início de vida sexual	20,2±5,1	18,7±3,9	0,24
Número de parceiros	2,8±2,2	2,8±2,4	0,97
Uso de preservativo	7 (9,9%)	5 (29,4%)	0,03
Uso de imunossupressor	49 (69%)	9 (52,9%)	0,20
Tempo do último preventivo (anos)	1,6±1,7	1,9±1,9	0,58

Dados apresentados como média e desvio-padrão para variáveis contínuas e n (%) para variáveis categóricas.

\* Resultado para grupo HPV+ com n=68; Resultado para grupo HPV- com n=16.

**Tabela 5.** Associação entre uso de imunossupressores\* e alterações colpocitológicas e colposcópicas nas pacientes com LES infectadas pelo HPV.

Colpocitologia	Imunossupressor + (n=49)	Imunossupressor – (n=22)	P
LIEBG	9 (18,4%)	2 (9,1%)	0,48
LIEAG	2 (4,1%)	1 (4,5%)	1,00
PI	32 (65,3%)	16 (72,7%)	0,53
Normal	0 (0%)	1 (4,5%)	0,31
ASCUS	3 (6,1%)	0 (0,0%)	0,54
Achados colposcópicos anormais	12 (24,5%)	1 (4,5%)	0,05

Dados apresentados como n (%) para variáveis categóricas. \*Imunossupressores avaliados: azatioprina, ciclofosfamida EV, metotrexato, micofenolato mofetil. **Abreviações:** LIEBG: Lesão intraepitelial de baixo grau; LIEAG: Lesão intraepitelial de alto grau; PI: Processo inflamatório; ASCUS: Células escamosas atípicas de significado indeterminado; LES: Lúpus eritematoso sistêmico; HPV: Papilomavírus humano. LES: Lúpus eritematoso sistêmico.