

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PREVALÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO GENOTÍPICA DO PAPILOMAVIRUS HUMANO (HVP) EM MULHERES BRASILEIRAS COM CÂNCER DO COLO DO ÚTERO E NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL, NO PERÍODO DE 2000 A 2020 – REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

Acadêmicos:

Leonardo Sandrini Costa (leo-sandrini@hotmail.com)

Mariana da Silveira Castro (marianasilveiracastro@gmail.com)

Orientadora: Dra. Vera Aparecida Saddi

Goiânia, outubro de 2021.

RESUMO

Introdução: O câncer do colo do útero (CCU) é o terceiro câncer mais incidente e o quarto em mortalidade por câncer na população feminina do Brasil. O principal fator de risco para o desenvolvimento do câncer do colo do útero é a infecção persistente por tipos oncogênicos do Papilomavirus humano (HPV), uma vez que a maioria dos casos de câncer do colo do útero apresentam o genoma viral. Nesse contexto, a detecção e a genotipagem do DNA do HPV permitem, com maior sensibilidade, detectar lesões préneoplásicas e estratificar, com maior efetividade, o risco para o desenvolvimento do câncer do colo do útero, fornecendo um parâmetro importante para o monitoramento do programa vacinal implantado no país e, mais especificamente, em cada cenário regional. Objetivo: Determinar a prevalência da infecção pelo HPV no câncer do colo do útero e na neoplasia intraepitelial cervical (NIC2 e NIC3), bem como a distribuição dos genótipos, na população brasileira. Metodologia: O estudo consiste em uma revisão sistemática e metanálise, que utilizou os critérios do PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis), conduzida a partir da busca de estudos disponíveis no PUBMED, usando os termos "Uterine Cervical" AND "Human Papillomavirus" AND "Brazil". Inicialmente, foram identificados 553 estudos e após leitura e seleção, com base nos critérios de inclusão, foram selecionados 18 estudos, sendo 13 relativos ao câncer do colo do útero e 10 relativos à neoplasia intraepitelial cervical. Os estudos foram publicados no período de 2000 e 2020 e os dados de prevalência e genotipagem de HPV no câncer do colo do útero e em NIC 2 e NIC 3 foram combinados em uma metanálise. **Resultados:** A população total investigada na metanálise foi de 2.991 mulheres brasileiras e todos os estudos incluídos usaram a reação em cadeia da polimerase (PCR) para detecção do DNA de HPV. A prevalência combinada de qualquer HPV no câncer do colo do útero foi de 94,0% (95% CI: 89,0 - 97,0%; I²= 86,0%). O HPV16 foi o genótipo mais prevalente no câncer do colo do útero (62,0%), seguido do HPV18 (9,0%), HPV33 (4,0%), HPV45 (3,0%), HPV31 (2,0%), HPV58 (2,0%) e HPV52 (1,0%). Na neoplasia intraepitelial cervical (NIC2 e NIC3), a prevalência combinada de qualquer HPV foi de 97.0% (95% CI: 85.0 - 100.0%; $I^2 = 78.0\%$) e os genótipos mais prevalentes foram HPV16 (47%), seguidos do HPV18 (5,0%), HPV33 (4,0%), HPV31 (4,0%), HPV45(3,0%), HPV52 (3,0%), HPV35 (2,0%) e HPV35 (2,0%). Conclusão: Os resultados desta revisão sistemática e metanálise confirmam a alta prevalência de HPV no câncer do colo do útero e nas lesões intraepiteliais cervicais das mulheres brasileiras, nos últimos vinte anos, e a distribuição genotípica do HPV descrita é consistente com aquela detectada em outras regiões do mundo, com maior prevalência do HPV16 e HPV18, seguidos pelo HPV33, HPV31, HPV35, HPV45, HPV52 e HPV58. O rastreamento contínuo da distribuição genotípica do HPV em casos de câncer do colo do útero e de neoplasia intraepitelial cervical é crucial na determinação da eficácia da vacina anti-HPV nos próximos anos, no Brasil.

Palavras-chave: HPV; Papilomavirus humano; detecção; genotipagem; neoplasia intraepitelial cervical; câncer do colo do útero; Brasil.

ABSTRACT

Introduction: Cervical cancer (CCU) is the third most incident cancer and the fourth in cancer mortality in the female population in Brazil. The main risk factor for the development of cervical cancer is the persistent infection with oncogenic types of Human Papillomavirus (HPV) since all cases of cervical cancer present the viral genome. In this context, HPV DNA detection and genotyping, used as a primary test, allows with greater sensitivity, the detection of pre-neoplastic lesions, and the more effective stratification of the risk for the development of cervical cancer, providing an important parameter for monitoring the vaccine program implemented in Brazil, more specifically, in each regional scenario. **Objective:** To determine the prevalence of HPV infection in cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia (CIN2 and CIN3), as well as the distribution of genotypes Brazil. Methodology: The study comprises a systematic review and metaanalysis, which used the criteria of PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis), conducted from the search for studies available in PUBMED, by using the terms "Uterine Cervical" AND "Human Papillomavirus" AND "Brazil". Initially, 553 studies were identified and after reading and selection, based on the inclusion criteria, 18 studies were selected, including 13 studies related to cervical cancer and ten related to cervical intraepithelial neoplasia. The studies were published between 2000 and 2020 and the HPV prevalence and genotyping data in cervical cancer and in CIN 2 and CIN 3 were combined in a meta-analysis. Results: The population investigated in the meta-analysis comprised 2,991 Brazilian women and all included studies used the polymerase chain reaction (PCR) to detect HPV DNA. The combined prevalence of any HPV in cervical cancer was 94.0% (95% CI: 89.0 - 97.0%; I2= 86.0%). HPV16 was the most prevalent genotype in cervical cancer (62.0%), followed by HPV18 (9.0%), HPV33 (4.0%), HPV45 (3.0%), HPV31 (2, 0%), HPV58 (2.0%) and HPV52 (1.0%). In cervical intraepithelial neoplasia (CIN2 and CIN3), the combined prevalence of any HPV was 97.0% (95% CI: 85.0 - 100.0%; I2= 78.0%), and the most prevalent genotypes were HPV16 (47%), followed by HPV18 (5.0%), HPV33 (4.0%), HPV31 (4.0%), HPV45 (3.0%), HPV52 (3.0%), HPV35 (2.0%) and HPV35 (2.0%). **Conclusion:** The results of this systematic review and meta-analysis confirm the high prevalence of HPV in cervical cancer and cervical intraepithelial lesions in Brazilian women over the last twenty years, and the genotypic distribution of HPV described herein is consistent with that detected in other regions in the world, with the highest prevalence of HPV16 and HPV18, followed by HPV33, HPV31, HPV35, HPV45, HPV52, and HPV58. Continuous tracking on the HPV genotypic distribution in new cases of cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia is crucial in determining the effectiveness of the anti-HPV vaccine in the coming years in Brazil.

Keywords: HPV; Human Papillomavirus; detection; genotyping; cervical intraepithelial neoplasia; cervical cancer; Brazil.

3

INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero é o quarto tipo de câncer mais comum em mulheres no mundo. Em 2018, cerca de 570.000 mulheres foram diagnosticadas com câncer do colo do útero em todo o mundo e cerca de 311.000 mulheres morreram em decorrência da doença. No Brasil, 16.710 novos casos foram estimados em 2020, com prevalência de 15,38 casos a cada 100.000 mulheres. O câncer do colo do útero é a terceira localização primária de maior incidência e a quarta de mortalidade por câncer em mulheres no Brasil, sem considerar tumores de pele não melanoma. Em 2018, foram registrados 6.526 óbitos por câncer do colo do útero no Brasil, representando uma taxa ajustada de mortalidade de 6,10/100.000 mulheres (INCA, 2019).

Na perspectiva mundial, os maiores números de casos de câncer do colo do útero encontram-se, principalmente, no Sudeste Asiático, Leste Europeu, África Subsaariana e na América Latina. A incidência global é de 13,1/100.0000 mulheres e a idade média ao diagnóstico é de 53 anos, enquanto a idade média de morte decorrente desse câncer é de 59 anos. No Brasil, verifica-se uma grande variabilidade regional na incidência do câncer do colo do útero, sendo o segundo tipo de câncer mais incidente nas regiões Norte (21,20/100.000), Nordeste (17,62/100.000) e Centro-Oeste (15,92/100.000), enquanto na região Sul (17,48/100.000) ocupa a quarta posição e na região Sudeste (12,01/100.000), a quinta posição (INCA, 2019).

O principal fator de risco para o desenvolvimento do câncer do colo do útero é a infecção persistente por tipos oncogênicos do Papilomavirus humano (HPV), uma vez que a maioria dos casos de câncer do colo do útero apresentam o genoma viral, com uma prevalência de 99,7% (WALBOOMERS et al., 1999). Há também fatores reprodutivos, sendo que mulheres com maior número de filhos tem mais chances de desenvolver esse tipo de câncer, infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) e pacientes com uso prolongado de imunossupressores. Fatores socioeconômicos também estão associados ao desenvolvimento do câncer do colo do útero, traduzidos pela dificuldade de acesso das mulheres aos serviços de rastreamento. Existem também os comportamentos de risco, caracterizados pelo início precoce da atividade sexual e história de múltiplos parceiros (DELAM et al., 2020).

De maneira geral, as infecções por HPV não causam nenhum sintoma ou doença e são resolvidas pelo sistema imunológico em um período de 12 a 24 meses. Porém, uma fração pequena das infecções persiste, o que leva à progressão das lesões para lesões préneoplásicas, que uma vez não tratadas, podem evoluir para o câncer do colo do útero. A persistência da infecção e a progressão das lesões préneoplásicas são influenciadas por fatores ambientais e por fatores associados ao hospedeiro e ao vírus (DE SANJOSÉ; BROTONS e PAVÓN, 2018).

Cerca de 200 diferentes tipos de HPV já são conhecidos e as sequências de nucleotídeos dos diferentes genótipos são altamente semelhantes. No entanto, há uma grande divergência funcional causada por pequenas mudanças genéticas entre eles, que podem, assim, diferenciar seus efeitos biológicos. As variações no potencial carcinogênico entre os HPVs são determinadas, principalmente pelas sequências gênicas que codificam as oncoproteínas virais E6 e E7. Os HPVs classificados como de alto risco oncogênico são aqueles comumente associados às infecções persistentes, às lesões préneoplásicas e ao câncer cervical e incluem 12 diferentes genótipos (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 59). A persistência da infecção por esses genótipos e o desenvolvimento de lesões com extensão apreciável e potencial evolução para o câncer cervical requerem avaliação colposcópica e biópsia (BOSCH, et al., 2002).

HPVs de alto risco oncogênico codificam oncoproteínas com alta capacidade de interação com as proteínas das células hospedeiras, alterando ou destruindo as principais moléculas reguladoras do ciclo celular. Nesse contexto, a progressão de uma infecção por HPV depende do tipo do vírus, da localização anatômica da infecção, da natureza e do momento das ações celulares no local, isto é, da modulação do sistema imunológico do hospedeiro e sua capacidade de combater a infecção (KASHYAP, et al., 2019).

Durante muitos anos, no mundo todo, o método usado no rastreamento do câncer do colo do útero e de suas lesões precursoras tem sido o exame citopatológico de Papanicolaou. No Brasil, o rastreamento é recomendado para mulheres com idades entre 25 e 64 anos, que já iniciaram atividade sexual. Antes dos 25 anos as infecções pelo HPV são muito prevalentes, bem como as lesões precursoras de baixo grau, mas nessa faixa etária a maioria das infecções regride espontaneamente. Por outro lado, a faixa etária entre 25 e 64 anos é priorizada devido à ocorrência das lesões precursoras de alto grau, passíveis de serem tratadas efetivamente, evitando a progressão para o câncer.

A incidência do câncer do colo do útero aumenta nas mulheres entre 30 e 39 anos de idade e atinge seu pico na quinta ou sexta décadas de vida. Nas mulheres com idades acima de 25 anos, o rastreamento é feito anualmente pelo exame Papanicolaou e após dois exames normais consecutivos, é feito a cada três anos. Após os 65 anos, a mulher que fez os exames preventivos regularmente e apresentou resultados normais, tem o risco de desenvolvimento do câncer do colo do útero reduzido, dada a sua lenta evolução (INCA, 2016).

O rastreamento do câncer do colo do útero pela citologia de Papanicolaou resultou em redução significativa da incidência e mortalidade por este câncer em todo o mundo. Entretanto, o reconhecimento de que o HPV é uma causa necessária para o câncer do colo do útero levou ao desenvolvimento de métodos moleculares capazes de detectar o genoma viral e identificar o genótipo implicado na infecção, com alta sensibilidade e especificidade. Inicialmente, os testes de detecção do genoma viral eram usados para fins de pesquisa científica e para a elucidação de anormalidades celulares com significado indeterminado. Nos últimos anos, foram incorporados como co-testes junto com a citologia de Papanicolaou, e mais recentemente, como método de rastreamento primário do câncer cervical (RONCO et al., 2014; KOLIOPOULOS et al., 2017; BOUVARD et al., 2021)

Os testes de DNA de HPV consistem em ensaios moleculares que detectam o DNA de vários tipos de HPV de alto risco, usando um coquetel de oligonucleotídeos complementares (sondas moleculares), seja por detecção genômica direta ou por amplificação de um fragmento de DNA viral, pela reação em cadeia polimerase (PCR) e teste de captura híbrida. A genotipagem de HPV se torna essencial como teste primário pois inclue uma maior sensibilidade para detectar lesões pré-neoplásicas, maior garantia de testes verdadeiramente negativos, um aumento seguro do intervalo de triagem, além de possibilitar uma estratificação de risco mais precisa, uma vez que diferentes genótipos causam evoluções distintas da infecção, levando em conta que as evoluções de cada caso são diferentes assim como a resistência da infecção e a gravidade da lesão. (BHATLA, et al., 2020).

Uma vez que a infecção pelo HPV representa o principal fator de risco para o desenvolvimento de câncer cervical, foram desenvolvidas vacinas profiláticas que protegem, de forma eficiente, contra alguns tipos de HPV, em indivíduos que ainda não

foram expostos. Os genótipos contemplados pelas vacinas são especialmente o HPV16 e HPV18, que atualmente são os mais comumente associados ao câncer do colo do útero e às lesões precursoras (ARBYN, et al; 2019). Atualmente, três principais vacinas são usadas na prevenção da infecção pelo HPV e, consequentemente, na prevenção do câncer do colo do útero.

As três vacinas incluem a bivalente, que protege apenas contra os HPVs 16 e 18; a quadrivalente, que protege contra os genótipos 6, 11, 16 e 18; e a nonavalente, que protege contra os genótipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58. Atualmente, a vacina fornecida pelo Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil é a quadrivalente, entretanto, questiona-se sua adequação à realidade brasileira, visto que estudos descrevem uma distribuição genotípica mais ampla e diversificada no país (MARTINS et al., 2016).

Frente à importância do rastreamento do câncer do colo do útero por meio dos testes moleculares de detecção do genoma do HPV, que vem sendo gradativamente implantados em todo o mundo, e da necessidade de se avaliar, a médio e longo prazo, a eficácia das vacinas anti-HPV no Brasil, torna-se necessário conhecer a prevalência da infecção pelo HPV nas diferentes regiões geográficas, bem como a distribuição dos genótipos na população brasileira.

Assim, este estudo visa avaliar, por meio de uma revisão sistemática da literatura, a prevalência e a distribuição genotípica do Papilomavirus humano nas neoplasias intraepiteliais cervicais e no câncer do colo uterino, em mulheres de diferentes regiões do país. Os dados gerados servirão de base para os estudos futuros de prevenção do câncer de colo do útero, por meio dos testes moleculares de detecção do DNA do HPV, e para os estudos de avaliação da eficácia das vacinas anti-HPV no Brasil.

MÉTODOS

Este estudo compreende uma revisão sistemática e metanálise sobre os estudos observacionais que avaliaram a prevalência e a distribuição dos principais genótipos de HPV no câncer do colo de útero (CCU) e em neoplasias intraepitelias cervicais (NIC2 e NIC3) em pacientes do Brasil. O estudo seguiu as recomendações do PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis*).

Metodologia de Busca

A busca dos artigos científicos foi realizada na base de dados do PUBMED/MEDLINE, em 02 de dezembro de 2020, a partir dos termos "Uterine Cervical" AND "Human Papillomavirus" AND "Brazil". Com base em critérios préestabelecidos, foram levantados artigos científicos publicados em inglês, no período de 2000 a 2020. Além disso, foram examinadas as listas de referências das publicações identificadas para estudos adicionais. Dois autores (MSC e LSC) avaliaram, de forma independente, os títulos e resumos dos artigos levantados, a fim de identificar os artigos relevantes para leitura completa. Casuísticas estudadas, ou subpopulações, avaliadas em mais de um estudo foram incluídas apenas uma vez nas análises. Discordâncias e discrepâncias entre os resultados coletados foram resolvidas mediante discussão com um terceiro revisor (VAS). Os dados coletados dos artigos incluídos na revisão sistemática e metanálise foram examinados a partir de tabelas de contingência, montadas previamente.

Seleção de estudos

Os critérios de inclusão dos artigos foram os seguintes: (1) estudos primários e descritivos, com, (2) no mínimo, oito pacientes brasileiras; (3) estudos com dados brutos e de prevalência de HPV objetivamente apresentados; (4) estudos com metodologia de detecção de HPV claramente descrita; (5) estudos cujo diagnóstico de neoplasia intraepitelial cervical ou câncer do colo de útero foi confirmado por histopatologia; (6) estudos que usaram métodos moleculares de PCR (reação em cadeia da polimerase), PCR em tempo real, hibridização reversa e sequenciamento de DNA para detecção e genotipagem de HPV; (7) estudos publicados a partir do ano 2000, (8) nos idiomas português, inglês e espanhol. Já os critérios de exclusão de artigos foram: (1) revisões

sistemáticas e meta-análises; (2) relatos de casos; (3) editoriais; (4) comentários; (5) artigos sem resumo disponível; (6) artigos cujos métodos não foram especificados com clareza; (7) artigos com metodologia inadequada para o estudo; (8) artigos com casuística duplicada.

Extração de dados

Os dados coletados dos artigos incluídos foram: título da publicação, autores, ano de publicação, local (instituição/cidade/região), desenho do estudo, casuística estudada (particularidades da população, por exemplo, mulheres HIV+, grávidas e imunocomprometidas), forma de recrutamento da população, idade média/mediana, prevalência geral de HPV, tipo de HPV detectado (genotipagem), metodologia de detecção de HPV e primers usados, metodologia de genotipagem e número de amostras analisadas. Os dados de prevalência foram tabulados para o câncer do colo de útero e para neoplasia intraepitelial cervical (NIC 2 e NIC 3), a fim de determinar a distribuição dos principais genótipos nos dois tipos de lesões.

Análise Estatística

Os dados obtidos foram utilizados para realizar uma metanálise. Neste contexto, os dados de prevalência geral de HPV e prevalência de tipos específicos foram combinados com a aplicação do modelo linear generalizado misto (GLMM, do inglês, generalized linear mixed model), que considera os efeitos aleatórios, além dos efeitos fixos usuais. Para avaliar a heterogeneidade dos estudos, foram aplicados os testes: do qui-quadrado (Chi²), Tau² e I². Para todos os testes, foi adotado o nível de significância de 5% (p-valor<0,05). A estatística e os gráficos foram realizados com o auxílio do software RStudio.

RESULTADOS

a) Descrição dos estudos incluídos

A busca inicial de títulos feita na base de dados do PUBMED resultou na detecção de 553 artigos publicados no período de 2000 a 2020. Após a leitura dos títulos e resumos, 146 estudos foram selecionados para a leitura na íntegra, dos quais 71 foram inicialmente incluídos para a extração de dados. Após a leitura criteriosa e análise dos dados com base nos critérios de inclusão, foram considerados 13 estudos que investigaram a detecção e a distribuição genotípica de HPV em amostras de câncer do colo de útero e 10 estudos que investigaram neoplasia intraepitelial cervical (NIC 2 e NIC 3). Os dados de NIC2 e NIC3 foram combinados para a análise de prevalência e distribuição genotípica. A figura 1 apresenta o fluxograma de levantamento, seleção e inclusão dos estudos.

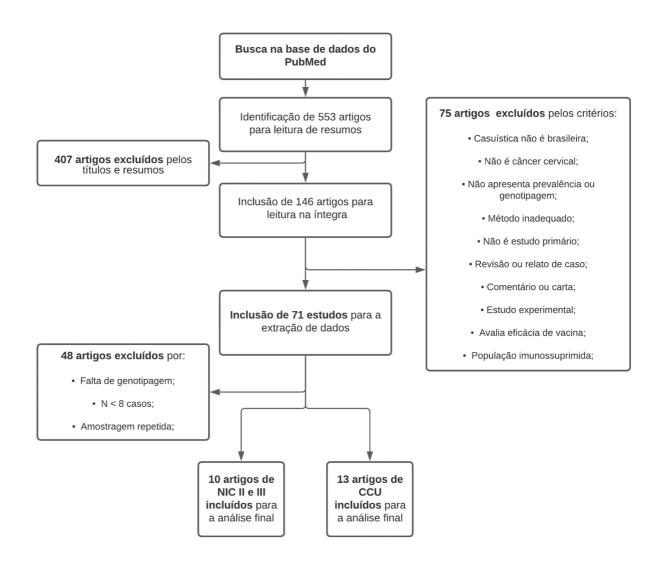


Figura 1- Fluxograma de seleção dos artigos

b) Prevalência de HPV no câncer do colo do útero no Brasil

Os 13 estudos que investigaram HPV em câncer do colo do útero incluíram um total de 2.113 mulheres. Os estudos incluídos contemplaram quatro regiões geográficas do Brasil, sendo que a maioria foi realizada na região Sudeste, com seis estudos (1.274 pacientes), seguida da região Nordeste, com quatro estudos (163 pacientes), região Centro-Oeste com três estudos (83 pacientes) e região Norte, que apresentou um estudo (593 pacientes). A maior casuística foi avaliada no estudo de ALMEIDA et al. (2017), que incluiu 1.183 amostras de câncer do colo do útero, sendo 590 amostras da região

Sudeste (RJ) e 593 da região Norte (PA). O estudo de TAVARES et al. (2014) apresentou a menor casuística, com oito amostras de câncer do colo de útero incluídas.

Em todos os estudos incluídos, a detecção de HPV foi feita com o uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) e os primers empregados foram principalmente MY09/11 (TAVARES et al., 2014; FERNANDES et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013; FERNANDES et al., 2011; RIBEIRO et al., 2011; RABELO-SANTOS et al., 2009) e GP5/6 (FUKASAWA et al., 2012; RABELO-SANTOS et al., 2002). Alguns estudos empregaram "nested" PCR, usando dois conjuntos de primers (SERRA et al., 2018; ALMEIDA et al., 2017; FILHO et al., 2014; AMARO et al., 2013). As amostras biológicas investigadas compreenderam tecido tumoral fixado em formol e incluído em parafina (GENTA et al., 2017; FUKASAWA et al., 2012; RABELO-SANTOS et al., 2002), tecido tumoral colhido à fresco e prontamente congelado (ALMEIDA et al., 2017; FILHO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2013; AMARO et al., 2013) E CÉLULAS CERVICAIS ESFOLIADAS (SERRA ET AL., 2018; TAVARES ET AL., 2014; FERNANDES et al., 2013; FERNANDES et al., 2011; RIBEIRO et al., 2011; RABELO-SANTOS et al., 2009).

A prevalência combinada de qualquer HPV no câncer do colo de útero foi de 94,0% (95% CI: 89,0 - 97,0%; I²= 86,0%) (figura 2). Com relação às diferentes regiões geográficas, os dados de prevalência combinada são apresentados na figura 3.

Study	Events	Total	GLMM, Random, 95% CI	GLMM, Random, 95% CI
Serra et al., 2018	9	9	1.00 [0.66; 1.00]	
Almeida et al., 2017	566	593	0.95 [0.93; 0.97]	[
Almeida et al., 2017	570	590	0.97 [0.95; 0.98]	
Genta et al., 2017	246	292	0.84 [0.80; 0.88]	-
Amaro Filho et al., 2014	84	87	0.97 [0.90; 0.99]	- 1
Tavare et al., 2014	8	8	1.00 [0.63; 1.00]	
Amaro Filho et al., 2013	83	87	0.95 [0.89; 0.99]	- i
Fernandes et al., 2013	86	98	0.88 [0.80; 0.94]	
Oliveira et al., 2013	170	172	0.99 [0.96; 1.00]	-
Fukasawa et al., 2012	32	46	0.70 [0.54; 0.82]	
Fernandes et al., 2011	41	48	0.85 [0.72; 0.94]	
Ribeiro et al., 2011	9	9	1.00 [0.66; 1.00]	
Rabelo-Santos et al., 2009	18	18	1.00 [0.81; 1.00]	
Rabelo-Santos et al., 2002	45	56	0.80 [0.68; 0.90]	
Total (95% CI)		2113	0.94 [0.89; 0.97]	
Heterogeneity: $Tau^2 = 1.0028$; $Chi^2 = 95.69$, $df = 13$ (P < 0.01); $I^2 = 86\%$				
				0.6 0.7 0.8 0.9 1

Figura 2 2- Prevalência combinada de qualquer HPV em câncer do colo do útero nos estudos brasileiros

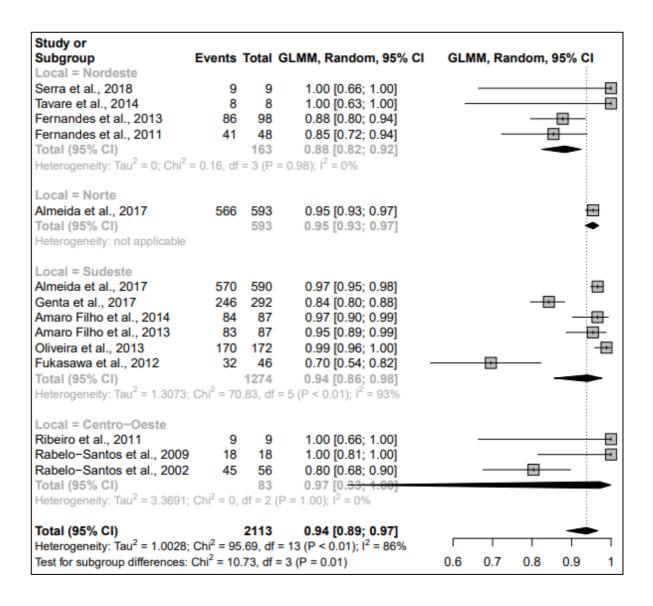


Figura 3 3 - Prevalência combinada de HPV no câncer do colo do útero nas diferentes regiões geográficas do Brasil

c) Distribuição genotípica de HPV no câncer do colo do útero no Brasil

A genotipagem de HPV foi feita em todos os estudos incluídos e os métodos usados na genotipagem incluíram PCR com primers tipo-específicos, PCR em tempo real com sondas tipo-específicas, hibridização reversa em tiras de nylon e sequenciamento de DNA. A prevalência combinada do HPV16 no câncer do colo de útero foi de 62,0% (95% CI: 57,0 - 66,0%; I²= 61,0%) (figura 4). Já a prevalência combinada do HPV18 no câncer do colo de útero foi de 9,0% (95% CI: 6,0 - 12,0%; I²= 45,0%) (figura 5). A prevalência combinada dos demais genótipos de HPV em amostras de câncer do colo de útero, em

mulheres brasileiras, foi: HPV33 (4,0%) (95% CI: 3,0 - 7,0%; I^2 = 68,0%); HPV45 (3,0%) (95% CI: 1,0 - 5,0%; I^2 = 0,0%); HPV 31 (2,0%) (95% CI: 1,0 - 4,0%; I^2 = 50,0%); HPV 58 (2,0%) (95% CI: 1,0 - 4,0%; I^2 = 73,0%); e HPV52 (1,0%) (95% CI: 0,0 - 2,0%; I^2 = ,0%). Outros genótipos de HPV menos frequentes apresentaram uma prevalência combinada de 8% (95% CI: 5,0 - 12,0%; I^2 = 2,0%). A distribuição genotípica do HPV no câncer do colo de útero em mulheres brasileiras é apresentada na figura 9.

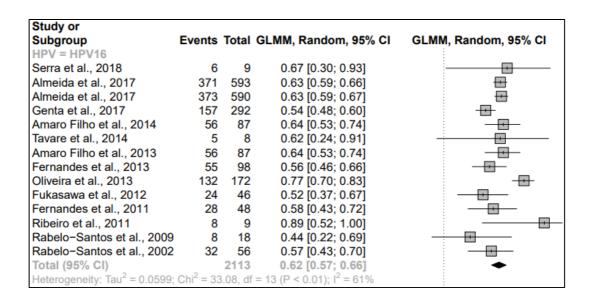


Figura 4 - Prevalência combinada de HPV-16 em câncer do colo do útero nos estudos brasileiros

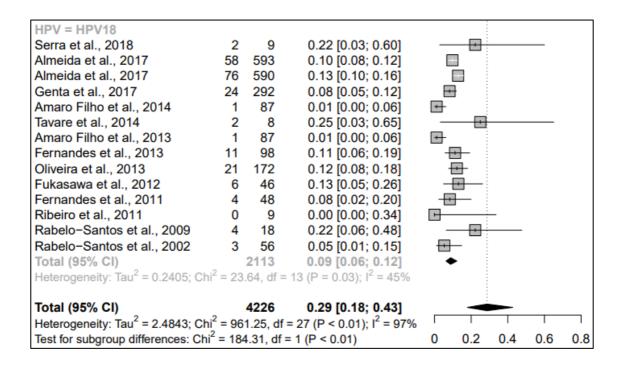


Figura 5 - Prevalência combinada de HPV-18 em câncer do colo do útero nos estudos brasileiros

d) Prevalência de HPV na neoplasia intraepitelial cervical (NIC2 e NIC3) no Brasil

Dez estudos que investigaram HPV em amostras de NIC2 e NIC3 foram incluídos nesta análise, com um total de 878 mulheres. Esses estudos investigaram casuísticas de quatro regiões geográficas do Brasil, incluindo a região Nordeste, com três estudos (322 pacientes), região Sul, com três estudos (312 pacientes), região Sudeste com dois estudos (186 pacientes) e região Centro-Oeste, que apresentou dois estudos (58 pacientes). A maior casuística foi avaliada no estudo de GILLIO-TOS et al. (2012), que incluiu 279 amostras de NIC2 e NIC3 e a menor casuística foi analisada no estudo de KRAMBECK et al. (2008), com 16 amostras NIC2 e NIC3 incluídas.

Em todos os estudos incluídos, a detecção de HPV foi feita com o uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) e os primers empregados foram principalmente MY09/11 (TAVARES et al., 2014; FERNANDES et al., 2013; PITTA et al., 2009; RABELO-SANTOS et al., 2009; KRAMBECK et al., 2008) e GP5/6 (JESUS et al., 2018; GILLIO-TOS et al., 2012; RABELO-SANTOS et al., 2002). Um estudo empregou "nested" PCR, usando dois conjuntos de primers (SERRA et al., 2018). As amostras biológicas investigadas compreenderam biópsia cervical com tecido fixado em formol e incluído em parafina (RABELO-SANTOS et al., 2002), biópsia cervical com tecido colhido à fresco e prontamente congelado (SERRA et al., 2018) e células cervicais esfoliadas (LEVI et al., 2019; JESUS et al., 2018; TAVARES et al., 2014; FERNANDES et al., 2013; GILLIO-TOS et al., 2012; RABELO-SANTOS et al., 2009; KRAMBECK et al., 2008).

A prevalência combinada de qualquer HPV nas amostras de NIC2 e NIC3 foi de 97,0% (95% CI: 85,0 - 100,0%; I²= 78,0%) (figura 6). Com relação às diferentes regiões geográficas, os dados de prevalência combinada de HPV em NIC2 e NIC3 são apresentados na figura 7.

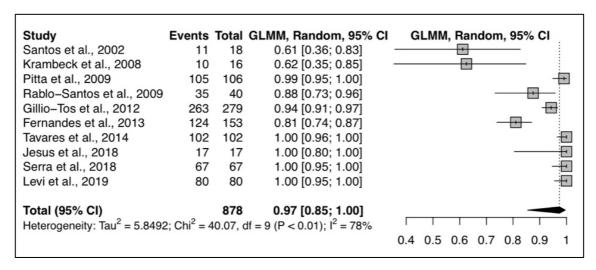


Figura 6 4- Prevalência combinada de qualquer HPV na neoplasia intraepitelial cervical (NIC2 e NIC3) nos estudos brasileiros

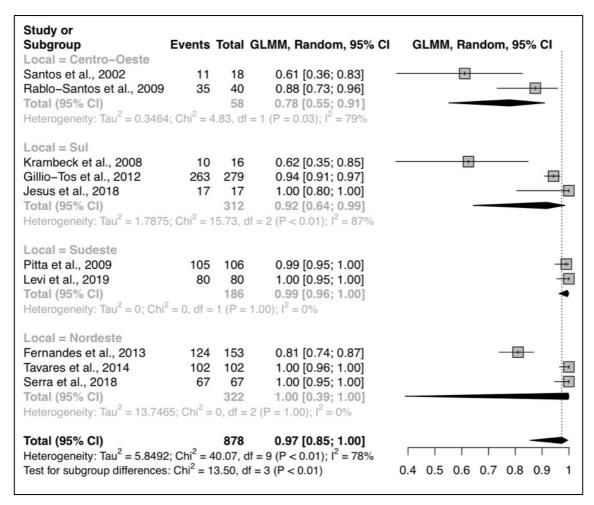


Figura 7 5 - Prevalência combinada de HPV na neoplasia intraepitelial cervical (NIC2 e NIC3) nas diferentes regiões geográficas do Brasil

e) Distribuição genotípica de HPV na neoplasia intraepitelial cervical (NIC2 e NIC3) no Brasil

A prevalência combinada do HPV16 nas amostras de NIC2 e NIC3 foi de 47,0% (95% CI: 35,0 - 60,0%; I²= 84,0%) e a prevalência combinada do HPV18 nas amostras de NIC2 e NIC3 foi de 5,0% (95% CI: 2,0 - 10,0%; I²= 67,0%) (figura 8). Dois estudos relataram a prevalência de infecções múltiplas por HPV16 e HPV18, com uma prevalência combinada de 40,0% (95% CI: 11,0 - 79,0%; I²= 94,0%) (figura 8).

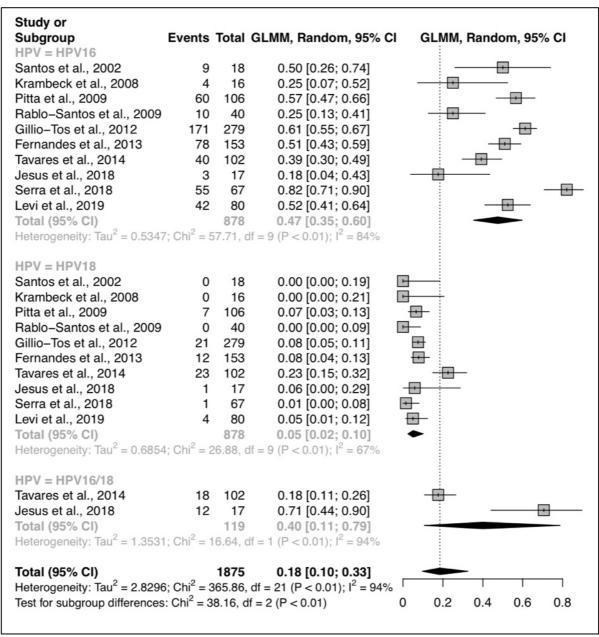


Figura 8 - Prevalência combinada do HPV16, HPV18 e de infecções múltiplas por HPV16 e HPV18 na neoplasia intraepitelial cervical (NIC2 e NIC3) em estudos brasileiros

A prevalência combinada dos demais genótipos de HPV em NIC2 e NIC3, de mulheres brasileiras, foi: HPV33 (4,0%) (95% CI: 2,0 - 10,0%; I^2 = 45,0%), HPV31 (4,0%) (95% CI: 2,0 - 12,0%; I^2 = 49,0%), HPV 35 (2,0%) (95% CI: 0,0 - 7,0%; I^2 = 21,0%), HPV 45 (3,0%) (95% CI: 2,0 - 6,0%; I^2 = 0,0%) e HPV52 (3,0%) (95% CI: 1,0 - 10,0%; I^2 = 22,0%). Outros genótipos de HPV menos frequentes foram relatados nas amostras de NIC 2 e NIC 3, como HPV73 (1,0%) (95% CI: 0,0 - 6,0%; I^2 = 0,0%), HPV81 (1,0%) (95% CI: 0,0 - 4,0%; I^2 = 0,0%), HPV84 (1,0%) (95% CI: 0,0 - 6,0%; I^2 = 0,0). A distribuição genotípica do HPV no NIC2 e NIC3 em mulheres brasileiras é apresentada na figura 9.

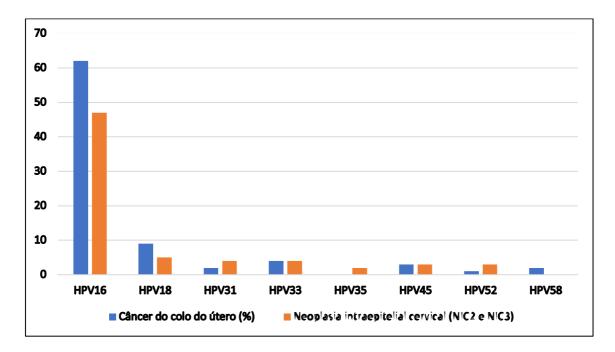


Figura 9 - Prevalência combinada dos principais genótipos de HPV na neoplasia intraepitelial cervical (NIC2 e NIC3) em estudos brasileiros

DISCUSSÃO

Analisar a prevalência e distribuição genotípica de HPV na neoplasia intraepitelial cervical e no câncer do colo do útero nas diferentes regiões do Brasil é de grande importância na avaliação do impacto das vacinas contra o HPV no câncer cervical e nos programas de rastreamento vigentes. Esta revisão sistemática e metanálise estimou a prevalência combinada e a distribuição dos principais genótipos de HPV de alto risco na neoplasia intraepitelial cervical (NIC2 e NIC3) e no câncer do colo do útero em pacientes brasileiras, nos últimos 20 anos. O principal diferencial do nosso estudo consiste nos critérios de seleção dos estudos incluídos, ou seja, todos os estudos incluídos utilizaram PCR como método de detecção de HPV e subpopulações foram analisadas dentro de estudos maiores, visando incluir somente casos de neoplasia intraepitelial cervical e câncer do colo do útero comprovados por exame histopatológico.

Uma metanálise recente (COLPANI et al., 2020) avaliou a prevalência e a distribuição genotípica de HPV de alto risco na população em geral, analisando os principais sítios anatômicos acometidos, como sítios anogenitais e cavidade oral, em diferentes regiões geográficas do Brasil. O estudo apresentou uma prevalência combinada de HPV de 25,4%, entretanto, não analisou separadamente casos de neoplasia intraepitelial cervical e de câncer do colo do útero e não fez nenhuma distinção com relação aos métodos de detecção do DNA viral.

Outra metanálise (CIAPPONI et al., 2011) investigou a prevalência e a distribuição genotípica de HPV no câncer cervical invasor e em lesões intraepiteliais cervicais de alto grau (HSIL) em mulheres da América Latina e Caribe. O estudo incluiu 1.735 pacientes brasileiras, com 466 casos de HSIL e 1.269 casos de câncer cervical invasor. Na população brasileira estudada, a prevalência combinada do HPV16 foi de 52,7% nos casos de HSIL e de 53,2% nos casos de câncer do colo do útero, enquanto a prevalência combinada do HPV18 foi de 9,0% nos casos de HSIL e 15,8% nos casos de câncer do colo do útero.

Nossos resultados mostraram uma prevalência combinada de HPV16 de 47,0% na neoplasia intraepitelial cervical (NIC2 e NIC3) e de 62,0% no câncer do colo do útero. Com relação ao HPV18, a prevalência combinada foi de 5,0% na neoplasia intraepitelial cervical (NIC2 e NIC3) e de 9,0% no câncer do colo do útero. Vários fatores explicam as

discordâncias entre os nossos resultados e a metanálise de CIAPPONI et al. (2011). Em primeiro lugar, nossa metanálise incluiu somente estudos publicados nos últimos 20 anos e todos os casos de NIC e câncer do colo do útero foram comprovados por análise histopatológica, aumentando a confiabilidade dos casos diagnosticados. Em segundo lugar, todos os estudos incluídos em nossa metanálise usaram a PCR para detecção do genoma viral, enquanto no estudo de CIAPPONI et al. (2011), parte dos estudos empregou métodos de hibridização de ácidos nuclêicos, como *Southern blot, FISH* e hibridização *in situ*. A detecção do genoma do HPV por PCR apresenta alta especificidade e alta sensibilidade e os uso de diferentes primers, que amplificam fragmentos do genoma viral com diferentes tamanhos, permite uma detecção heterogênea do DNA viral, mesmo em amostras fixadas em formol e incluídas em parafina.

Os estudos que avaliam a prevalência e a distribuição genotípica do HPV em mulheres brasileiras com câncer do colo do útero ainda são escassos e a maior casuística foi descrita no estudo de ALMEIDA et al. (2017), que avaliou 1.183 mulheres diagnosticadas com câncer do colo do útero, de apenas dois estados, o Rio de Janeiro e o Pará. A casuística deste estudo certamente impactou nos resultados de nossa metanálise, pois representou mais da metade dos casos avaliados, entretanto, outros 11 estudos incluindo 930 casos adicionais de câncer do colo do útero, desenvolvidos em diferentes regiões do país, foram incluídos em nossa metanálise, garantindo maior representatividade das diferentes regiões do país.

Uma limitação importante desta metanálise consistiu na impossibilidade de determinar a distribuição genotípica do HPV de acordo com os diferentes tipos histológicos do câncer do colo do útero. O estudo de ALMEIDA et al. (2017), que avaliou a maior casuística incluída nesta metanálise, apresentou a distribuição genotípica em relação aos tipos histológicos de forma clara, entretanto, os demais estudos não trouxeram esses dados de forma explícita. Outra dificuldade que merece ser considerada consistiu na impossibilidade de analisar infecções com genótipos múltiplos de HPV. Uma vez que as metodologias de genotipagem variaram entre os estudos incluídos e que algumas são incapazes de detectar genótipos menos frequentes, a prevalência de infecções múltiplas, especialmente entre os genótipos menos frequentes não foi considerada.

De acordo com os nossos resultados, a prevalência combinada do HPV16 (62%) e do HPV18 (9%) no câncer do colo do útero somou 71% dos casos analisados. Com base

nesses resultados, é possível prever que a vacina tetravalente anti-HPV, implementada no sistema público de saúde no Brasil, deverá reduzir cerca de 70% dos casos incidentes de câncer do colo do útero no país. Entretanto, frente aos demais genótipos detectados, como o HPV31, HPV33, HPV45, HPV52 e HPV58, que somaram uma prevalência combinada de aproximadamente 12%, a vacina nonavalente anti-HPV, deve ser fortemente considerada a fim ampliar o potencial impacto da vacinação sobre a incidência do câncer do colo do útero no Brasil.

CONCLUSÕES

- Os estudos de prevalência e distribuição genotípica do HPV na neoplasia intraepitelial cervical e no câncer do colo do útero no Brasil ainda são escassos e podem não refletir a totalidade da população do país, vez que algumas regiões geográficas se encontram sub-representadas neste estudo.
- Os resultados desta metanálise confirmam a alta prevalência de HPV no câncer do colo do útero e nas lesões intraepiteliais cervicais das mulheres brasileiras, nos últimos vinte anos.
- A distribuição genotípica do HPV descrita neste estudo é consistente com aquela detectada em outras regiões, com maior prevalência do HPV16 e HPV18, seguidos pelo HPV33, HPV31, HPV35, HPV45, HPV52 e HPV58.
- A prevalência combinada do HPV16 e HPV18 no câncer do colo do útero estimada neste estudo foi de 71%, entretanto, outros genótipos detectados em menores proporções somaram uma prevalência combinada de aproximadamente 12%, o que torna a vacina nonavalente anti-HPV fortemente recomendada no sentido de ampliar o impacto da vacinação na redução da incidência do câncer do colo do útero no Brasil.
- Estudos que investigam a prevalência e distribuição genotípica do HPV na neoplasia intraepitelial cervical e no câncer do colo do útero no Brasil devem ser implementados, no sentido de fornecer dados de base mais consistentes a serem usados nas avaliações futuras da eficácia da vacinação anti-HPV na população do Brasil.

REFERÊNCIAS

- 1. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. 1999;189(1):12-19. doi:10.1002/(SICI)1096-9896(199909)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F
- 2. Amaro Filho SM, Nuovo GJ, Cunha CB, et al. Correlation of MCM2 detection with stage and virology of cervical cancer. *Int J Biol Markers*. 2014;29(4):e363-e371. Published 2014 Dec 9. doi:10.5301/jbm.5000081
- 3. Amaro-Filho SM, Golub JE, Nuovo GJ, et al. A comparative analysis of clinical and molecular factors with the stage of cervical cancer in a Brazilian cohort. *PLoS One*. 2013;8(3):e57810. doi:10.1371/journal.pone.0057810
- 4. Bhatla N, Singhal S. Primary HPV screening for cervical cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2020;65:98-108. doi:10.1016/j.bpobgyn.2020.02.008
- 5. Bouvard V, Wentzensen N, Mackie A, et al. The IARC Perspective on Cervical Cancer Screening. *N Engl J Med*. 2021;385(20):1908-1918. doi:10.1056/NEJMsr2030640
- 6. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol*. 2002;55(4):244-265. doi:10.1136/jcp.55.4.244
- 7. Ciapponi A, Bardach A, Glujovsky D, Gibbons L, Picconi MA. Type-specific HPV prevalence in cervical cancer and high-grade lesions in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2011;6(10):e25493. doi: 10.1371/journal.pone.0025493. Epub 2011 Oct 4. PMID: 21991313; PMCID: PMC3186785.
- 8. Colpani V, Soares Falcetta F, Bacelo Bidinotto A, Kops NL, Falavigna M, Serpa Hammes L, Schwartz Benzaken A, Kalume Maranhão AG, Domingues CMAS, Wendland EM. Prevalence of human papillomavirus (HPV) in Brazil: A systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2020 Feb 21;15(2):e0229154. doi: 10.1371/journal.pone.0229154. PMID: 32084177; PMCID: PMC7034815.
- 9. de Almeida LM, Martins LFL, Pontes VB, et al. Human Papillomavirus Genotype Distribution among Cervical Cancer Patients prior to Brazilian National HPV Immunization Program. *J Environ Public Health*. 2017;2017;1645074. doi:10.1155/2017/1645074

- de Oliveira CM, Fregnani JH, Carvalho JP, Longatto-Filho A, Levi JE. Human papillomavirus genotypes distribution in 175 invasive cervical cancer cases from Brazil. *BMC Cancer*. 2013;13:357. Published 2013 Jul 24. doi:10.1186/1471-2407-13-357
- 11. Delam, H., & Izanloo, S., & RAFI BAZRAFSHAN, M., & Eidi, A. (2020). Risk Factors for Cervical Cancer: An Epidemiological Review. JOURNAL OF HEALTH SCIENCES AND SURVEILLANCE SYSTEM, 8(3), 105-109.
- 12. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. 2. ed. rev. atual. Rio de Janeiro: INCA, 2016.
- 13. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. José Alencar Gomes da Silva. Rio de Janeiro: INCA, 2019.
- 14. Fernandes J, Carvalho M, de Fernandes T, et al. Prevalence of human papillomavirus type 58 in women with or without cervical lesions in northeast Brazil. *Ann Med Health Sci Res.* 2013;3(4):504-510. doi:10.4103/2141-9248.122060
- 15. Fernandes JV, Meissner Rde V, Carvalho MG, et al. Human papillomavirus prevalence in women with normal cytology and with cervical cancer in Natal, Brazil. *Mol Med Rep.* 2011;4(6):1321-1326. doi:10.3892/mmr.2011.579
- Gillio-Tos A, Bicalho Mda G, Fiano V, et al. Case-control study of HLA-G promoter methylation status, HPV infection and cervical neoplasia in Curitiba, Brazil: a pilot analysis. *BMC Cancer*. 2012;12:618. Published 2012 Dec 24. doi:10.1186/1471-2407-12-618
- 17. Hassumi-Fukasawa MK, Miranda-Camargo FA, Zanetti BR, Galano DF, Ribeiro-Silva A, Soares EG. Expression of BAG-1 and PARP-1 in precursor lesions and invasive cervical cancer associated with human papillomavirus (HPV). *Pathol Oncol Res.* 2012;18(4):929-937. doi:10.1007/s12253-012-9523-y
- 18. J.W. Sellors & R. Sankaranarayanan; Colposcopy and Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Beginners' Manual. 2004. ISBN: 92 832 0415 8
- 19. Jesus SP, Costa ACMD, Barcellos RB, Medeiros RM, Silva CMDD, Rossetti ML. A high prevalence of human papillomavirus 16 and 18 co-infections in cervical biopsies from southern Brazil. *Braz J Microbiol*. 2018;49 Suppl 1(Suppl 1):220-223. doi:10.1016/j.bjm.2018.04.003

- 20. Kashyap N, Krishnan N, Kaur S, Ghai S. Risk Factors of Cervical Cancer: A Case-Control Study. *Asia Pac J Oncol Nurs*. 2019;6(3):308-314. doi:10.4103/apjon.apjon_73_18
- 21. Koliopoulos G, Nyaga VN, Santesso N, et al. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;8(8):CD008587. Published 2017 Aug 10. doi:10.1002/14651858.CD008587.pub2
- 22. Krambeck WM, Cadidé RM, Dalmarco EM, de Cordova CM. HPV detection and genotyping as an earlier approach in cervical cancer screening of the female genital tract. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2008;35(3):175-178.
- 23. Levi JE, Martins TR, Longatto-Filho A, et al. High-Risk HPV Testing in Primary Screening for Cervical Cancer in the Public Health System, São Paulo, Brazil. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2019;12(8):539-546. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-19-0076
- 24. Martins TR, Mendes de Oliveira C, Rosa LR, et al. HPV genotype distribution in Brazilian women with and without cervical lesions: correlation to cytological data. *Virol J.* 2016;13:138. Published 2016 Aug 12. doi:10.1186/s12985-016-0594-3
- 25. Nogueira D G ML, Martins TR, Mendoza Lopez RV, et al. Multiple HPV genotype infection impact on invasive cervical cancer presentation and survival. *PLoS One*. 2017;12(8):e0182854. Published 2017 Aug 22. doi:10.1371/journal.pone.0182854
- 26. Pitta DR, Sarian LO, Campos EA, Rabelo-Santos SH, Syrjänen K, Derchain SF. Phylogenetic classification of human papillomavirus genotypes in high-grade cervical intraepithelial neoplasia in women from a densely populated Brazilian urban region. *Sao Paulo Med J.* 2009;127(3):122-127. doi:10.1590/s1516-31802009000300003
- 27. Rabelo-Santos SH, Derchain SF, Villa LL, et al. Human papillomavirus-specific genotypes in cervical lesions of women referred for smears with atypical glandular cells or adenocarcinoma in situ. *Int J Gynecol Pathol*. 2009;28(3):272-278. doi:10.1097/PGP.0b013e318190ed27
- 28. Rabelo-Santos SH, Zeferino L, Villa LL, Sobrinho JP, Amaral RG, Magalhães AV. Human papillomavirus prevalence among women with cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer from Goiânia,

- Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003;98(2):181-184. doi:10.1590/s0074-02762003000200003
- 29. Ronco G, Dillner J, Elfström KM, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials [published correction appears in Lancet. 2015 Oct 10;386(10002):1446]. *Lancet*. 2014;383(9916):524-532. doi:10.1016/S0140-6736(13)62218-7
- 31. Ribeiro AA, Figueiredo Alves RR, Costa MC, et al. Association between HPV types and species groups and cervical neoplasia from a high-risk area for cervical cancer, Goiânia, Brazil. *Int J Gynecol Pathol*. 2011;30(3):288-294. doi:10.1097/PGP.0b013e3181fde259
- 32. Serra IGSS et al. Prevalence of human papillomavirus types associated with cervical lesions in Sergipe state, Northeastern Brazil: high frequency of a possibly carcinogenic type. *Epidemiol Infect*. 2018;146(9):1184-1193. doi:10.1017/S095026881800105X
- 33. Tavares MC, de Macêdo JL, de Lima Júnior SF, et al. Chlamydia trachomatis infection and human papillomavirus in women with cervical neoplasia in Pernambuco-Brazil. *Mol Biol Rep.* 2014;41(2):865-874. doi:10.1007/s11033-013-2927-2