



Universidade Federal do Amazonas  
Faculdade de Medicina  
PIBIC 2010/2011



**Detecção das taxas de infecção por HPV de baixo e alto  
potenciais oncogênicos e a relação com a lesão intraepitelial  
anal em pacientes HIV positivos atendidos na Fundação de  
Medicina Tropical do Amazonas**

Orientadora: Adriana Gonçalves Daumas Pinheiro Guimarães

Bolsista: Aline Lury Hada

Manaus – 2011



Universidade Federal do Amazonas  
Faculdade de Medicina  
PIBIC 2010/2011



RELATÓRIO FINAL  
PIB-S/0021/2010

**Detecção das taxas de infecção por HPV de baixo e alto potenciais oncogênicos e a relação com a lesão intraepitelial anal em pacientes HIV positivos atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas**

Orientadora: Adriana Gonçalves Dumas Pinheiro Guimarães

Bolsista: Aline Lury Hada

Manaus – 2011

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b>	Média e mediana de idade quanto ao diagnóstico do HIV e do HPV de baixo e alto risco.....	<b>23</b>
<b>Tabela 2</b>	Ocorrência de infecção pelo HPV segundo o <i>status</i> sorológico do HIV-1.....	<b>24</b>
<b>Tabela 3</b>	Distribuição, segundo à ocorrência de NIA, do diagnóstico do HIV do dos graus de oncogenicidade do HPV.....	<b>27</b>
<b>Tabela 4</b>	Análise dos graus de severidade da NIA em relação à prática do sexo anal receptivo (AR), status do HIV e do HPV.....	<b>28</b>
<b>Tabela 5</b>	Correlação de NIA com os níveis de linfócitos TCD4+ circulantes	<b>30</b>
<b>Tabela 6</b>	Distribuição e análise dos graus de severidade da NIA e da carga viral periférica do HIV-1.....	<b>31</b>
<b>Tabela 7</b>	Influência da TARV sobre a carga viral periférica do HIV-1.....	<b>32</b>
<b>Tabela 8</b>	Variação dos níveis periféricos carga viral do HIV-1 em relação ao tipo de TARV.....	<b>33</b>
<b>Tabela 9</b>	Distribuição, segundo os níveis de células TCD4, da carga viral sérica periférica do HIV-1.....	<b>34</b>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1 ESTRUTURA DO HPV E PATOGÊNESE VIRAL.....</b>	<b>6</b>
<b>1.2 NEOPLASIA INTRAEPITELIAL ANAL E O CÂNCER ANAL.....</b>	<b>8</b>
<b>1.3 FATORES DE RISCO PARA O CÂNCER ANAL.....</b>	<b>9</b>
<b>1.4 CRITÉRIOS DEFINIDORES DE AIDS.....</b>	<b>9</b>
<b>1.5 O PAPEL DA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL (TARV) NA PROGRESSÃO DA NIA/CÂNCER..</b>	<b>11</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>12</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
<b>3.1 OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>13</b>
<b>3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>13</b>
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>13</b>
<b>4.1 MODELO DE ESTUDO.....</b>	<b>13</b>
<b>4.2 UNIVERSO DE ESTUDO.....</b>	<b>13</b>
<b>4.2.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO.....</b>	<b>13</b>
<b>4.2.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>4.2.2.1 GRUPO CASO.....</b>	<b>14</b>
<b>4.2.2.2 GRUPO CONTROLE.....</b>	<b>14</b>
<b>4.2.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>4.2.3.1 GRUPO CASO.....</b>	<b>15</b>
<b>4.2.3.2 GRUPO CONTROLE.....</b>	<b>15</b>
<b>4.3 PROCEDIMENTOS.....</b>	<b>15</b>
<b>4.3.1 COLETA.....</b>	<b>15</b>
<b>4.3.2 FLUXOGRAMA DE EXECUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>4.3.3 ANUSCOPIA COM MAGNIFICAÇÃO DE IMAGENS (AMI) E OBTENÇÃO DAS</b>	<b>17</b>
<b>AMOSTRAS TECIDUAIS.....</b>	<b>17</b>
<b>4.3.4 DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO.....</b>	<b>17</b>
<b>4.3.5 DETECÇÃO DO HPV POR CAPTURA HÍBRIDA.....</b>	<b>18</b>
<b>4.3.6 DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DO HIV.....</b>	<b>19</b>
<b>4.3.7 CONTAGEM DE LINFÓCITOS TCD4+ E DETERMINAÇÃO DA CARGA VIRAL.....</b>	<b>19</b>
<b>4.4 ANÁLISE DOS RESULTADOS.....</b>	<b>19</b>
<b>4.4.1 AMOSTRA.....</b>	<b>20</b>
<b>4.4.2 CÁLCULO DA AMOSTRA.....</b>	<b>20</b>
<b>4.4.3 TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....</b>	<b>20</b>
<b>4.5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....</b>	<b>21</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>23</b>
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>35</b>
<b>6 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>36</b>

## 1. Introdução

### 1.1 Estrutura do HPV e patogênese viral

O papilomavírus humano (HPV) é um vírus DNA pertencente ao gênero *Papillomavirus*, ao grupo *Papovavirus* e à família *Papovaviridae*. Já foram completamente descritos aproximadamente 118 tipos de HPV (FILHO, VAL e SILVEIRA, 2007), dos quais pelo menos 40 parecem acometer a região da mucosa anogenital (FRANCO, 1996).

Os HPVs são vírus essencialmente epiteliotrópicos, que necessitam romper a barreira epitelial através de fissuras na pele, dos folículos pilosos ou da exposição prolongada à água, para invadirem as células da camada basal. Eles não são líticos e, portanto, não se liberam da célula até sua chegada à superfície epitelial (MARCHETTI *et al*, 2002).

A classificação dos tipos pode ser feita baseada no potencial de oncogenicidade, associando-se os tipos com as neoplasias epiteliais de alto grau e o carcinoma, da seguinte forma:

<b>Classificação de risco</b>	<b>Tipos de HPV</b>
Alto risco	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82
Provável alto risco	26, 53, 66
Baixo risco	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, CP6108
Risco indeterminado	34, 57, 83

Quadro 1 – Classificação dos tipos de HPV quanto à oncogenicidade

Fonte: MUÑOZ *et al*, 2003.

A infecção pelo papilomavírus humano é a causa mais comum de doenças sexualmente transmissíveis na região perianal (MANZIONE, NADAL e CALORE,

2004; NADAL e MANZIONE, 2009), estando relacionada a um amplo espectro de lesões benignas e malignas (KREUTER *et al*, 2008). Dentre essas, destaca-se a neoplasia intraepitelial anal (NIA), lesão precursora do câncer anal (VUYST *et al*, 2009).

Bosch *et al*, em 2002, propuseram de forma esquemática alguns dos principais componentes da evolução da infecção pelo HPV para o câncer:

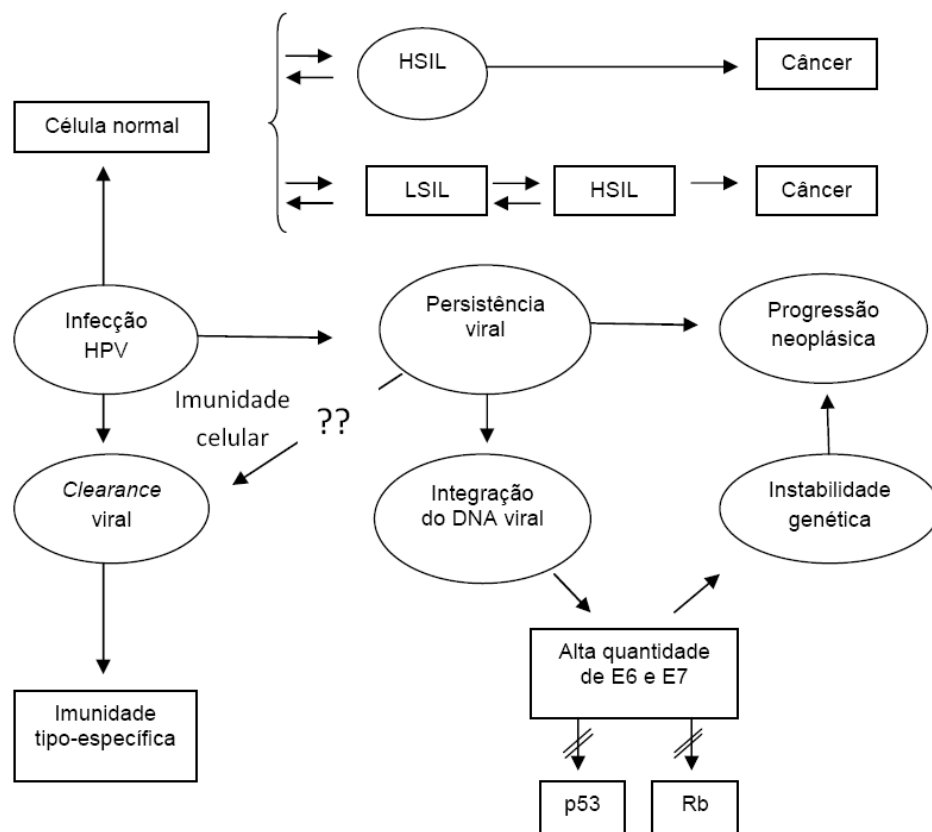


Figura 1- Mecanismos da carcinogênese pelo HPV

Fonte: BOSCH *et al*, 2002.

Em indivíduos imunocompetentes, a maioria das infecções anogenitais por HPV são eliminadas pelo sistema imune dentro de poucos meses, já os pacientes portadores de imunodeficiência apresentam fator de risco adicional para a persistência do HPV. Fato é que a infecção anal por HPV está presente na grande maioria de indivíduos HIV positivos, principalmente em homens que fazem sexo com homens, nos quais infecções

com múltiplos tipos de HPV são comuns (KREUTER *et al*, 2008), aumentando drasticamente o risco relativo para NIA e câncer anal, 60,1 e 37,9, respectivamente, neste subgrupo (KREUTER *et al*, 2005).

Snoek *et al*, em 2003, realizaram um estudo de coorte com o objetivo de determinar aos fatores de risco associados à infecção pelo HPV em um grupo de homens que fazem sexo com homens. HPV de alto risco foi mais frequentemente encontrado em pacientes infectados pelo HIV e houve também uma possível associação entre a presença do HPV e a infecção anal concomitante por clamídia, gonococo e o vírus herpes simples.

## **1.2 Neoplasia intraepitelial anal e o câncer anal**

O epitélio displásico ou portador de lesões intraepiteliais escamosas é caracterizado pela presença de graus progressivos de anomalias de diferenciação celular e de maturação, ocorridas desde a membrana basal até a superfície celular. Essas alterações são classificadas em leve ou neoplasia intraepitelial escamosa de baixo grau (NIAI), cujas alterações ocupam 1/3 da sua espessura do epitélio escamoso, podendo apresentar células atípicas, mas não mitoses atípicas; moderado ou neoplasia intraepitelial escamosa de grau moderado (NIAII), com alterações ocupando 1/2 da espessura do epitélio, onde células atípicas podem ser vistas, mas não figuras mitóticas; severo ou neoplasia intraepitelial escamosa de grau severo (NIAIII), onde há extensa destruição da arquitetura de todo epitélio, presença de atipias citoplasmáticas, nucleares e mitoses, e por fim podendo evoluir para o carcinoma *in situ* e o invasivo escamoso que apresenta infiltração da lâmina própria por aglomerados de células tumorais (ABRAMOWIT *et al*, 2007; APGAR, 2003; BANDEIRA *et al*, 2001).

A importância clínica em graduar a gravidade das lesões displásicas, ou intraepiteliais, reside no fato do risco do desenvolvimento do carcinoma escamoso aumentar conforme a neoplasia intraepitelial evolui para graus mais severos. Todo carcinoma escamoso cervical desenvolve-se de NIA III e, apesar da compreensão da história natural da lesão intraepitelial escamosa anal (ASIL) não estar concluída, é aceito que a neoplasia intraepitelial de grau severo (NIA III) preceda o câncer anal escamoso pelas similaridades com o câncer cervical (MARTINS, 2005).

### **1.3 Fatores de risco para o câncer anal**

A incidência de câncer anal foi descrita por Melbye *et al* (1991) como vinte vezes mais frequente em indivíduos HIV positivos. Em um estudo realizado a fim de avaliar o risco de cânceres associados ao HPV em pacientes com aids, Chaturvedi *et al* (2009) observaram que aproximadamente 89,7% de pacientes do sexo masculino, portadores de aids e que realizavam sexo com homens, desenvolveram câncer anal, ao passo que apenas 20.8% do grupo de heterossexuais eram portadores do câncer anal. No Brasil, Nadal *et al* (2006), descreveram o câncer anal em pacientes HIV positivos, como seis vezes mais frequente no sexo masculino e, ocorrendo duas décadas mais cedo do que a média de idade do grupo controle.

Wong e colaboradores, em 2010, descreveram que em 80% dos casos os cânceres anais são associados com HPV de alto risco, sendo o tipo 16 prevalente em 70% destes tumores. Este estudo em Los Angeles mostrou uma incidência de 75% de HPV em pacientes com NIA, sendo o HPV tipo 16 demonstrado em 60% destas amostras e em 89% dos carcinomas de células escamosas.

### **1.4 Critérios definidores de aids**



Pacientes infectados pelo HIV podem ser classificados pelos níveis plasmáticos de linfócitos TCD4<sup>+</sup> e pela ocorrência das doenças definidoras de AIDS, conforme mostrado no Quadro 2.

Células CD4/mm <sup>3</sup>	Assintomáticos ou Infecção aguda LPG	Sintomáticos Menos A e C	Doenças indicadoras de AIDS (1997)
> 500 mm <sup>3</sup>	A1	B1	C1
201 a 499 mm <sup>3</sup>	A2	B2	C2
< 200 mm <sup>3</sup>	A3	B3	C3

Quadro 2 - Classificação Clínica e Laboratorial dos Pacientes com Infecção pelo HIV

Fonte: Adaptado de Brasil\_Critérios de definição de casos de aids (2004).

Pacientes das classes A3, B3, C1, C2 e C3 devem ser notificados como AIDS.

Quando classificado como B ou C, o paciente não poderá ser reclassificado quando cessarem os sintomas.

Legenda LPG = linfadenopatia generalizada persistente.

De acordo com Bazin *et al* (2005) são considerados portadores de aids os pacientes que apresentam as doenças definidoras da doença (Quadro 3) com quaisquer níveis de TCD4<sup>+</sup> ou os com contagem de linfócitos TCD4<sup>+</sup> inferior a 200/mm<sup>3</sup>, mesmo sem relato de infecção oportunista.

Candidíase de esôfago, traquéia, brônquios ou pulmão
Citomegalovirose disseminada ou coriorretinite
Criptococose extrapulmonar
Criptococose com diarreia persistente por mais de 30 dias
Herpes simples monocutâneo por mais de 30 dias, ou de brônquios, pulmão ou trato gastrointestinal
Histoplasmose disseminada
Isosporíase com diarreia persistente por mais de 30 dias

Leucoencefalopatia multifocal progressiva
Linfoma primário de cérebro
Linfoma não-Hodgkin de células B, de células grandes ou pequenas não clivadas ou de células grandes, imunoblástico
Sarcoma de Kaposi em pacientes com menos de 60 anos
Micobacteriose (não-tuberculosa)
Sepse recorrente por <i>Salmonella</i> não-tifóide
Pneumonia por <i>Pneumocystis carinii</i>
Toxoplasmose cerebral
Pneumonias bacterianas recorrentes, mais de dois episódios em 12 meses
Câncer cervical invasivo
Síndrome consumptiva: emagrecimento de $\pm$ 10kg, diarreia crônica e febre por mais de 30 dias.

Quadro 3 - Doenças Definidoras de aids segundo os Critérios Modificados do CDC

Fonte: Adaptado de Brasil\_Critérios de definição de casos de aids (2004).

Legenda: CDC: Center for Diseases Control and Prevention.

O diagnóstico de aids em pacientes com sorologia positiva para o HIV, pode ser feito utilizando-se o critério Rio de Janeiro/Caracas, se o somatório de pontos for igual ou superior a dez (BRASIL, 2004).

### 1.5 O papel da terapia antirretroviral (TARV) na progressão da NIA/câncer

Após a ampliação do acesso aos esquemas de TARV pela população, notou-se uma queda na morbidade e mortalidade na maioria dos países. Entretanto, a insuficiente restauração imunológica, associada à exposição prolongada aos vírus oncogênicos e à instabilidade genômica, podem culminar em uma vigilância imunológica deficiente e subsequente elevação da incidência de tumores (FERNANDEZ, 2003).

A implementação da TARV foi acompanhada do aumento das taxas de ASIL atribuídas à maior sobrevida, facilitação da progressão pela imunossupressão e ineficiente ação da TARV sobre o HPV (PALEFSKY *et al*, 1998a; ABRAMOWITZ *et*

*al*, 2007).

O efeito da TARV sobre o câncer anal, as lesões precursoras e a prevalência do HPV são complexas e com publicações conflitantes (PALEFSKY, 1999; DELMAS *et al*, 2000; LILLO *et al*, 2001). Se por um lado a recuperação do sistema imune poderia reduzir a prevalência do HPV, da ASIL e da evolução da displasia, por outro o aumento da atividade sexual e da longevidade podem paradoxalmente induzir efeitos opostos (PALEFSKY *et al*, 1998a; PALEFSKY *et al*, 1998b; PALEFSKY *et al*, 1998c). Abramowitz *et al* (2007) concluíram que a melhora da imunidade associada à era TARV não foi capaz de prevenir a recorrência das lesões relacionadas ao HPV.

Desta forma, o presente estudo tem como objetivo avaliar a taxa de ocorrência de infecção anorretal por HPV, quanto ao potencial de oncogenicidade, a relação com a neoplasia intraepitelial e o uso dos antirretrovirais nos pacientes HIV positivos atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas.

## **2. Justificativa**

A infecção pelo HPV é a doença sexualmente transmissível mais frequente nos pacientes HIV positivos. O grupo, por suas peculiaridades, apresenta taxa elevada de recidiva e maior potencial oncogênico associado. O conhecimento do potencial de oncogenicidade da lesão associada ao condiloma reveste-se de relevância por permitir estratificar os pacientes de maior risco para o desfecho e que, portanto, necessitam de acompanhamento mais restrito associado à conduta terapêutica mais agressiva.

Estudos prévios realizados na FMT-AM já demonstraram a crescente elevação das taxas de NIA nos pacientes HIV positivos (Daumas, 2007). O conhecimento quanto ao potencial oncogênico dos vírus associados à NIA severa e sua relação com o estágio

clínico da infecção e com os antirretrovirais traçarão os novos rumos a serem adotados no seguimento destes pacientes .

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Geral**

Avaliar a taxa de ocorrência de infecção por HPV anorretal quanto ao potencial de oncogenicidade nos pacientes HIV positivos portadores de NIA, atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas.

#### **3.2 Específicos**

- a) caracterizar o grupo de infecção pelo HPV, correlacionando-o com grau de lesão escamosa intraepitelial anal;
- b) caracterizar os níveis de TCD4+ circulantes e a carga viral periférica do HIV-1 nos pacientes com aids, coinfectedos com o HPV;
- c) conhecer o estágio clínico do HIV dos pacientes coinfectedos com HPV de alto risco e a relação com os antirretrovirais.

### **4. Metodologia**

#### **4.1 Modelo de estudo**

Buscando estimar a ocorrência de infecção por HPV e a relação com a neoplasia intraepitelial anal, optou-se por um estudo observacional analítico prospectivo, transversal, de detecção de casos.

#### **4.2 Universo de estudo**

##### **4.2.1 População de estudo**

Foram estudados pacientes do sexo masculino, portadores de sorologia positiva para o HIV com ou sem aids. A amostra foi composta por pacientes encaminhados ao ambulatório de coloproctologia da FMT-AM, provenientes dos ambulatórios de DSTs/aids e dermatologia ou por livre demanda.

Os indivíduos receberam informações por escrito sobre o conteúdo do estudo, riscos e benefícios sendo oferecido, aos que se interessaram o TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) (Apêndice A) para a coleta da assinatura expressando o livre interesse na participação do estudo.

#### **4.2.2 Critérios de inclusão**

##### **4.2.2.1 Grupo caso:**

a) Pacientes do sexo masculino, HIV positivos, adeptos do sexo anal receptivo (AR), aqui caracterizado pela prática sexual > que 1x/mês pelo menos 04 meses por ano, portadores de NIA, que não utilizam a TARV e com idade  $\geq$  a 14 anos completos a até  $\leq$  60 anos, com consentimento de um dos pais ou responsável quando menores que 18 anos.

b) Pacientes do sexo masculino, HIV positivos, adeptos do sexo anal receptivo (AR), aqui caracterizado pela prática sexual > que 1x/mês pelo menos 04 meses por ano, portadores de NIA, que utilizam a TARV e com idade  $\geq$  a 14 anos completos a até  $\leq$  60 anos, com consentimento de um dos pais ou responsável quando menores que 18 anos.

##### **4.2.2.2 Grupo controle:**

Pacientes do sexo masculino, com sorologia negativa para o HIV, não adeptos ao sexo anal receptivo e sem a ocorrência de NIA/câncer anal nos laudos de histopatologia. Com idade  $\geq$  a 14 anos completos a até  $\leq$  60 anos, com consentimento de um dos pais ou responsável, quando menores que 18 anos.

#### **4.2.3 Critérios de exclusão (para ambos os grupos)**

#### 4.2.3.1 Grupo caso:

- a) portadores de doenças sexualmente transmissíveis (DST), exceto a infecção pelo papilomavírus humano (HPV);
- b) portadores atuais de outras doenças oportunista clinicamente e/ou laboratorialmente detectável relacionada a aids;
- c) portadores de outras doenças imunossupressoras;
- d) neutropênicos ( $< 500$  céls x  $\text{mm}^3$ );
- e) em uso de drogas com efeito anticoagulante nos últimos quinze dias;
- f) plaquetopênicos ( $< 75000$  céls x  $\text{mm}^3$ );
- g) incapazes mentalmente;
  
- h) indígenas;
- i) transplantados de órgãos sólidos em uso de imunossupressores;
- j) portadores de neoplasia maligna não associadas ao HIV/AIDS;
- k) pacientes com aids em uso de TARV por período inferior a 1 mês, ou que seu uso tenha sido irregular no último mês.

#### 4.2.3.2 Grupo controle (especificamente):

- a) adeptos do sexo anal receptivo;
- b) tabagistas nos últimos 24 meses, mesmo na forma interrupta;
- c) histórico de DST e/ou DST clinicamente ou laboratorialmente detectável;
- d) portadores de neoplasia maligna e/ou uso de drogas imunossupressoras.

Quanto ao HIV	Quanto ao sexo anal receptivo	Quanto à presença de NIA/Câncer
HIV +	AR +	NIA +
HIV -	AR -	NIA -
AIDS +	AR +	NIA +

Quadro 4 – Resumo das características clínicas dos grupos a serem estudados

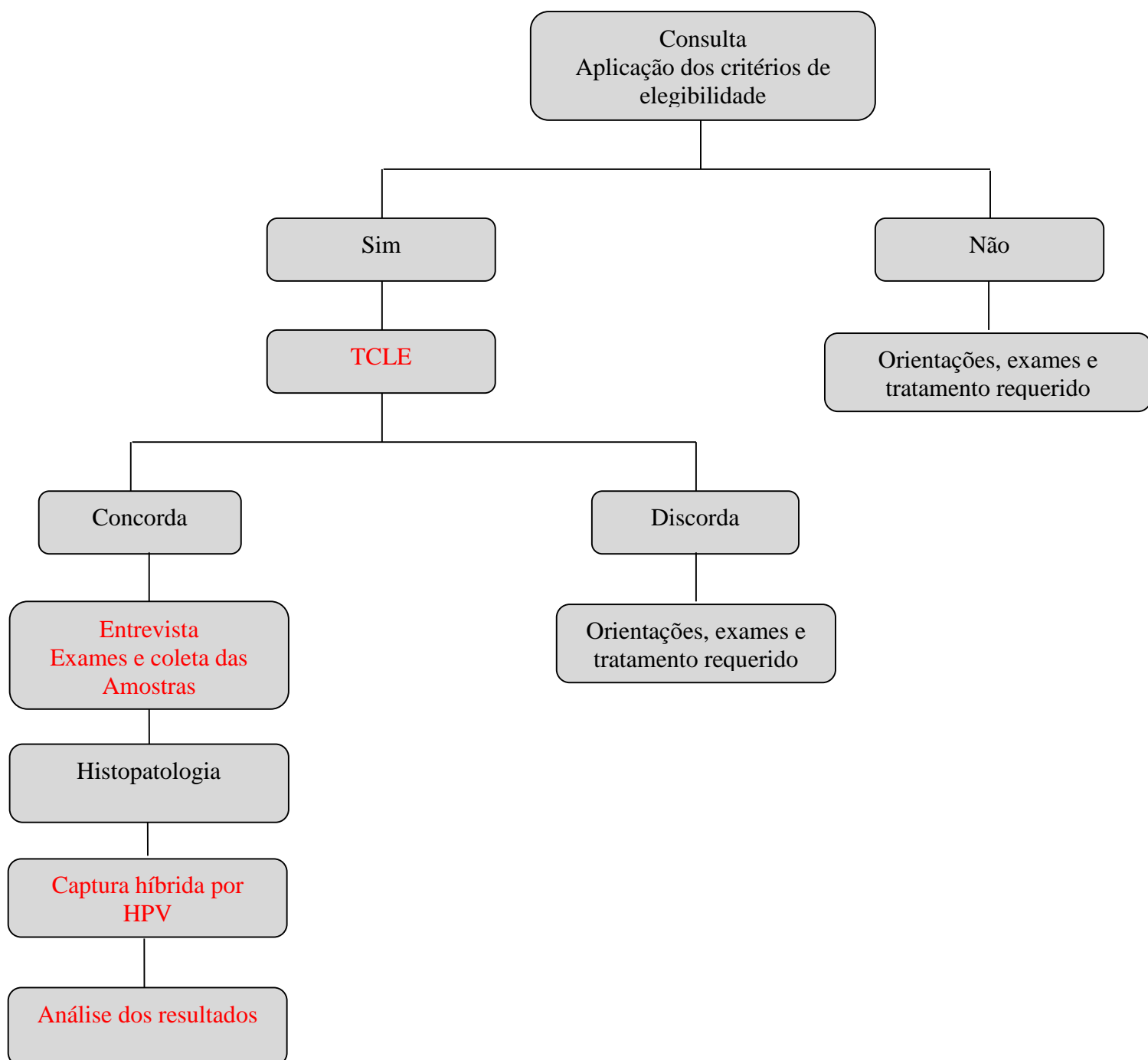
### 4.3 Procedimentos

#### 4.3.1 Coleta

A inclusão dos pacientes na pesquisa foi feita de forma contínua, no período de junho de 2010 a janeiro de 2011, e obedecendo aos critérios de elegibilidade. Na oportunidade foi aplicado o protocolo de estudo eletrônico, onde foram compilados os dados socioculturais dos pacientes.

### 4.3.2 Fluxograma de execução

Desde a chegada do paciente ao ambulatório de coloproctologia, os eventos da pesquisa estão detalhados na figura 2:



Obs.: Os itens em vermelho no fluxograma são os que englobam as atividades desenvolvidas pela jovem pesquisadora.

Figura 2 – Fluxograma de execução

### **4.3.3 Anuscopia com Magnificação de Imagens (AMI) e Obtenção das Amostras Teciduais**

Os pacientes selecionados foram submetidos à inspeção anal seguida da coleta de material citológico para a detecção do HPV, pelo teste de captura híbrida. A coleta citológica foi feita através da rotação por 10x da escova cilíndrica estéril de nylon, específica, no canal anal, sobre a região pectínea (ROKA *et al*, 2008), realizada na FMT-AM.

Após o término do exame físico especializado com o toque retal, os pacientes foram submetidos à AMI, onde a pele perianal, o epitélio transicional e a mucosa foram inspecionados com colposcópio de aumento (16 a 40 x), retirado os resíduos fecais com solução fisiológica a 0,9% e então biopsiadas as áreas suspeitas à magnificação e, caso não houvesse lesões que sustentassem suspeitas clínicas, a biópsia foi realizada às 3 horas na linha pectínea. A amostra designada ao estudo histopatológico foi conservada em formalina tamponada a 10%, processada e submetida a exame histopatológico convencional no Laboratório de Anatomia Patológica da FMT-AM.

### **4.3.4 Diagnóstico Histológico**

As amostras permaneceram no formol tamponado por um período mínimo de 12 horas e máximo de 48 horas, e então submetidas à desidratação, inclusão em parafina, confecção dos blocos e secção em fatias de 4 $\mu$ . A secção histológica foi montada em lâmina de vidro com extremidade fosca, coradas pela técnica da hematoxilina-eosina (BEHMER *et al*, 1976) e observadas à microscopia ótica à procura de alterações inflamatórias, citopáticas, displásicas e /ou neoplásicas.

### **4.3.5 Detecção do HPV por Captura Híbrida**



Os testes para detecção dos grupos de risco do HPV foram feitos por captura híbrida, onde foram detectados os HPV de maior relevância designados segundo o potencial oncogênico para o câncer anal. As amostras foram analisadas para os seguintes subtipos de HPV de acordo com Roka *et al* (2008):

- a) baixo risco: 6, 11, 41, 42, 43;
- b) alto risco: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68.

As amostras foram processadas de acordo com o protocolo do fabricante (DIGENE, 2008), e tem como princípio a detecção, via sonda, do ácido nucléico híbrido RNA-DNA específicos para os subtipos do HPV de baixo e alto grau previstos. O RNA-DNA híbrido foi marcado com anticorpo fluorescente, emitindo luz que seria capturada pelo luminômetro como unidade de luz relativa (*relative light units-RLU*). O limite de  $\geq 1$  pg/ml RLU do HPV 16 foi utilizado como controle positivo. Além dos resultados negativo e positivo de baixo ou alto risco para o HPV, a carga viral também foi estimada pelos níveis da RLU. Etapas de detecção por captura híbrida: Fase de Desnaturação: foram feitas alíquotas de 500 $\mu$ l de reagente de desnaturação no tubo com amostra e homogeneizadas no vortex. As amostras deveriam se tornar púrpuras e as tampas de pressão deveriam ser trocadas pelas roscas e o material incubado a 65°C por 45 minutos; Fase de Hibridização: foram feitas alíquotas de 25 $\mu$ l de sonda e 75 $\mu$ l de amostra e colocadas no microtubo, cobertas com *Plate Sealers* e homogeneizadas a 1.100 rpm por 2 minutos. A coloração deverá se tornar amarela. Incubadas a 65°C por 60 minutos; Fase de Captura dos Híbridos: todo o material foi transferido para a microplaca, centrifugados a 1.100 rpm por 60 minutos a 20-25°C; Fase de Reação com o conjugado: o conteúdo da microplaca foi desprezado, adicionado 75 $\mu$ l de reagente de detecção 1 em cada micropoço.e incubados a 20-25°C por 30 minutos. As microplacas foram lavadas seis vezes; Fase de Amplificação de Sinais: adicionados 75 $\mu$ l de reagente

de detecção 2 em cada micropoço e incubado a 20-25°C por 15 minutos; Fase de leitura por quimioluminescência: introduzida a microplaca no dml-2000 e realizada a leitura.

#### **4.3.6 Diagnóstico sorológico do HIV**

Realizou-se no Laboratório de Análises Clínicas da FMT-AM de acordo com a rotina estabelecida pelo mesmo, descrita a seguir:

a) Assintomáticos para aids: realizou-se o teste de reação de ensaio imunoenzimático – ELISA (WHO, 2004);

b) Sintomáticos para aids: realizaram-se dois testes rápidos - Determine<sup>®</sup>, Rapid Check<sup>®</sup>, sendo os casos discordantes confirmados pelo Unigold<sup>®</sup> (VAN DEN BERK, 2003; BRANSON, 2003)

Nos dois casos, os resultados positivos foram confirmados pelas técnicas de imunofluorescência indireta (IFI) (ASCHER e WILBER, 1990). Para os resultados discordantes realizou-se o teste de *Western Blot*.

#### **4.3.7 Contagem de linfócitos T CD4<sup>+</sup> e determinação da carga viral**

Coletaram-se do prontuário individual dos pacientes com HIV/aids da FMT-AM os resultados mais recentes referentes à contagem dos linfócitos TCD4<sup>+</sup> realizados pela técnica da citometria de fluxo no aparelho BD FACSCalibur<sup>®</sup>, e à determinação da carga viral do HIV-1 pelo ensaio NASBA Biomérieux<sup>®</sup> (VAN BEUNINGEN *et al*, 2001).

As quantificações aceitas foram as coletadas no período máximo de 03 meses desde que não tenha ocorrido nenhum episódio de infecção oportunista no período, nos casos contrários, nova determinação foi realizada.

#### **4.4 Análise dos resultados**

#### 4.4.1 Amostra

Foram coletadas amostras histológicas da zona de transição anal, linha pectínea, de 94 pacientes, divididos em três subgrupos caracterizados no quadro 4.

#### 4.4.2 Cálculo da Amostra

Tomando como base a dissertação de Daumas (2007), que analisou a prevalência de NIA em pacientes HIV positivos em Manaus, Amazonas, o cálculo amostral foi realizado através do programa EPIINFO® (CDC, 2005):

Estimativa de P: 0.666

Erro: 10%

Coefficiente de Confiança: 95%

N: 85

N total + 10% (perda): 94 pacientes.

#### 4.4.3 Tratamento Estatístico

Os dados foram registrados em banco de dados eletrônico alimentado a cada consulta. Inicialmente foram utilizados métodos de análises descritivas. Os resultados foram tratados estatisticamente, onde as variáveis categóricas foram submetidas a contagem e percentagens, e comparadas entre os grupos através do teste de *Qui-quadrado* ou do *Teste exato de Fisher* e construídas matrizes de 2x2, conforme indicado. As variáveis contínuas foram avaliadas através da média, mediana e desvio-padrão e submetidas aos testes *T. de Student* ou *ANOVA* para mais de uma amostra ou ainda *Mann Whitney* ou *Kruskal-Wallis*, conforme o mais indicado.

Objetivando uma melhora na caracterização dos casos, os subgrupos clínicos de interesse estudados foram: pacientes HIV positivos sem aids (aqui definidos como

pacientes com diagnóstico laboratorial do HIV e que não tivessem apresentado nenhuma das doenças constantes da lista de doenças definidoras ou sugestiva de aids (quadro 3) e que possuísem contagem de células TCD4 superior a 500), pacientes com aids (aqui definidos como pacientes que tivessem apresentado uma ou mais doenças definidoras de aids (quadro 3) e que apresentassem contagem de linfócitos TCD4<sup>+</sup> inferior a 200). Os subgrupos foram ainda divididos quanto à prática do sexo anal receptivo e a presença de NIA/câncer. Os pacientes HIV negativos (denominados controle, ou seja, pacientes HIV negativos, não portadores de histórico de DST e/ou infecção pelo HPV na região anorretal e sem NIA/câncer na análise histológica). Estes subgrupos foram subdivididos quanto à presença ou ausência da infecção pelos subgrupos de baixo risco ou o de risco elevado de HPV, e ainda quanto à prevalência de neoplasia intraepitelial anal e o câncer, quanto à média de células TCD4<sup>+</sup> e carga viral do HIV-1 e quanto ao uso da terapia antirretroviral de alta potência. As diferenças entre os subgrupos foram consideradas significantes quando o p valor for  $\leq 0,05$ .

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Minitab® versão 1.4- 2003.

#### **4.5 Considerações éticas**

Este projeto é parte de um estudo de maior complexidade intitulado “Perfil imunológico da mucosa anal de pacientes HIV positivos e a relação com a lesão intraepitelial e o câncer”, o qual faz parte da tese de doutorado da orientadora deste estudo com a devida aprovação no Comitê de Ética e Pesquisa da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas sob aprovação nº 1951, registro CEP nº 3319-08, e CAAE – 0065.0.114.000-08.

Os pacientes receberam os esclarecimentos quanto aos objetivos do estudo,

riscos e benefícios da pesquisa. Os que concordaram, assinaram o TCLE, ficando-lhes assegurado o caráter confidencial dos dados e o recebimento de uma cópia do TCLE contendo o telefone de contato e a assinatura do pesquisador responsável.

## 5. Resultados e discussão

No presente estudo, foram analisados 99 pacientes, 69 HIV positivos e 30 HIV negativos. Os pacientes foram encaminhados ao ambulatório de coloproctologia da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD). De forma que os pacientes HIV-positivos eram oriundos do ambulatório de DST/aids, e os pacientes HIV negativos encaminhados a Instituição, por possuírem alguma queixa proctológica.

Na população de estudo, 100% dos pacientes eram do sexo masculino. A média de idade dos pacientes HIV positivos foi de 34,3 anos e dos pacientes HIV negativos 47,4 anos ( $p < 0,001$ ). O fato dos pacientes do grupo caso (HIV-positivos) serem de faixa etária mais jovem reflete justamente a faixa mais ativa sexualmente e, portanto, mais exposta e acometida por DST e queixas proctológicas dos pacientes adeptos à prática do sexo anal receptivo (AR). A diferença na faixa etária também foi observada quanto à ocorrência da infecção pelo papilomavírus humano (HPV) de alto e de baixo grau ( $p < 0,001$ ) (Tabela 1).

Tabela 1 – Média e mediana de idade quanto ao diagnóstico do HIV e do HPV de baixo e alto risco.

Variáveis	Idade				p-valor
	n	Média	Desvio-Padrão	Mediana	
<b>HIV</b>	30	47.47	10.31	47.5	<0.001*
Não	68	34.34	12.99	32.5	
Sim					
<b>HPV Baixo</b>					<0.001*
Não	48	45.25	13.19	43	
Sim	48	31.46	10.12	29.5	

<b>HPV alto</b>					
Não	39	46.77	12.45	46	<0.001*
Sim	58	32.76	11.47	30	

*Teste de Mann-Whitney\*/Teste de Kruskal-Wallis\*\**

Legenda: HIV: vírus da imunodeficiência humana, HPV: papilomavírus humano.

Quanto à prática do sexo anal receptivo, 42 (45,6%) pacientes se declararam adeptos a esta prática. Destes, 92,8% (39) pacientes eram HIV positivos e apenas 03 (7,2%) eram HIV negativos (OR: 11,7;  $p < 0.001$ ) (Tabela 2). Os achados apontam a heterossexualidade como um fator de proteção à aquisição do HIV e são corroborados pelos estudos de Sobhani *et al* (2001) e Daumas (2007). Segundo Pokomandy *et al* (2010), os tipos de HPV, a história sexual de mais de 10 parceiros sexuais e a presença do HIV são fatores preditivos para o desenvolvimento de NIA II e III.

Neste estudo, a prevalência da infecção pelo HPV foi estimada através da realização da técnica da captura híbrida de amostra citológica anal. Avaliamos o HPV de alto ou baixo potencial oncológico, ou HPV total, que foi identificado em 60,6% ( $n=60$ ) das 99 amostras analisadas. Destas, 59,5% ( $n: 59$ ) eram relacionadas ao HPV de alto risco e 48,5% ( $n: 48$ ) ao de baixo risco,  $p < 0.001$  (Tabela 2).

Tabela 2 – Ocorrência de infecção pelo HPV segundo o *status* sorológico do HIV-1.

Variáveis	HIV				Total	OR (IC 95%)	p-valor
	Não		Sim				
	N	%	n	%			
<b>AR</b>							
Não	24	88.9	26	40.0	50	11.7	<0.001
Sim	3	11.1	39	60.0	42		
	27	100	65	100	92		
<b>HPV Baixo</b>							
Não	28	93.3	21	31.3	49	29.5	<0.001
Sim	2	6.7	46	68.7	48		
	30	100	67	100	97		
<b>HPV alto</b>							
Não	26	86.7	13	19.1	39	26.2	<0.001

Sim	4	13.3	55	80.9	59		
	30	100	68	100	98		
<b>HPV Total</b>							
Não	26	86.7	13	18.8	39		
Sim	4	13.3	56	81.2	60	26.6	<0.001
	30	100	69	100	99		

*Teste de Exato de Fisher*

Legenda: HIV: vírus da imunodeficiência humana, HPV: papilomavírus humano.

Os resultados da tabela 2 mostram uma prevalência de 81,2% (56) do HPV total dentre os pacientes HIV positivos, que apresentaram risco 26,6 vezes maior quando comparados aos HIV negativos de contraírem a infecção pelo HPV. Resultados semelhantes foram vistos quando a análise foi feita por potencial oncogênico do HPV ( $p < 0.001$  para todas as análises). Os achados são semelhantes aos de Palefsky *et al* (1998) que descreveram prevalência elevada do HPV (93%) em pacientes HIV positivos homossexuais, e chance seis vezes maior da infecção nos pacientes HIV positivos. Sobhani *et al* (2001) descreveram também a maior prevalência de HPV oncogênico nos pacientes HIV positivos ( $p: 0.04$ ).

Analizamos ainda a associação, em um mesmo paciente, do HPV de alto e baixo risco, o que representou 48,4% (47/97) da amostra. Os dados foram um pouco inferiores ao estudo de Orlando *et al* (2010) envolvendo pacientes com DST, independente do status do HIV, onde observaram 62,3% de associação dos tipos de HPV. Em nossa amostra, 95,7%, dos pacientes que apresentaram HPV de baixo e alto grau, eram HIV positivos e 38,3% apresentaram NIA (OR: 4.68;  $p: 0.002$ ), com taxa de NIA severa superior a 50% (Tabela 3).

Quanto à análise histopatológica da amostra anal, os laudos histopatológicos foram revisados através de uma reunião de consenso envolvendo no mínimo dois patologistas, sendo um deles senior. Dos 99 pacientes estudados, 20% apresentaram laudos normais, 41% apresentaram patologia inflamatória não específica, 24%

apresentaram NIA, 12% dos pacientes apresentaram outras patologias benignas (como herpes e tuberculose) e 2% apresentaram metaplasia. Não houve casos de carcinomas.

A prevalência global de NIA observada neste estudo foi de 24%, e de 35% no grupo de pacientes HIV positivos e 0 % no grupo controle ( $p < 0.001$ ) (Tabela 3). Estudos anteriores realizados nesta mesma instituição revelaram uma maior prevalência da neoplasia intraepitelial anal em ambos grupos. Daumas (2007) observou uma prevalência de 66,7% entre os pacientes HIV positivos e Gimenez *et al* (2008) descreveram uma prevalência de 42,8% no mesmo grupo.

Estudos prévios importantes como o de Palefsky *et al* (2005) revelaram taxas de NIA tão elevadas quanto 81%. A relevante diminuição da taxa de NIA em nosso serviço já foi previamente descrita num recente estudo (COSTA e SILVA *et al*, 2010) que encontraram taxa de NIA entre homens que fazem sexo com homens (HSH) de 27% e de 38,3% nos HIV positivos. Apesar de Palefsky *et al* (1997), na era pré-TARV, ter estimado a progressão à NIA III como de 49% em 04 anos nestes pacientes, no caso particular de nossa Instituição, desde 2004 desenvolvemos ininterruptamente um trabalho de prevenção do câncer anal, com acompanhamento no mínimo semestral, eletrofulguração das NIA e conscientização aos grupos de risco. Outro fator importante neste estudo é que no grupo controle foram criteriosamente excluídos pacientes com fatores de risco para o desenvolvimento de NIA como o tabagismo, as DST, o AR e a NIA prévia, tendo-se estudado um grupo controle quase “puro”, o que resultou na inobservância de ocorrência de NIA neste grupo.



Tabela 3 – Distribuição, segundo a ocorrência de NIA, do diagnóstico do HIV do dos graus de oncogenicidade do HPV.

Variáveis	NIA				Total	OR (IC 95%)	P-valor
	SIM		NÃO				
	n	%	n	%			
<b>HIV</b>							
Não	30	40.0	0	0.0	30		
Sim	45	60.0	24	100.0	69	-	<0.001
	75	100	24	100	99		
<b>HPV Baixo</b>							
Não	46	61.3	3	13.6	49		
Sim	29	38.7	19	86.4	48	9.81	<0.001
	75	100	22	100	97		
<b>HPV alto</b>							
Não	38	51.4	1	4.2	39		
Sim	36	48.6	23	95.8	59	23.7	<0.001
	74	100	24	100	98		
<b>HPV Total</b>							
Não	39	52.0	0	0.0	39		
Sim	36	48.0	24	100.0	60	-	<0.001
	75	100	24	100	99		
<b>HPV Alto e Baixo</b>							
Não	46	61.3	6	25.0	52		
Sim	29	38.7	18	75.0	47	4.68	0.002
	75	100	24	100	99		

*Teste de Exato de Fisher*

Legenda: NIA: neoplasia intraepitelial anal, AR: sexo anal receptivo, HIV: vírus da imunodeficiência humana, HPV: papilomavírus humano

Quanto aos graus de severidade da NIA, no grupo de pacientes HIV positivos, 45,8% (n=11/24) foram diagnosticados com NIA de baixo grau (NIA I) e 54,2% com NIA de grau intermediário e elevado (NIA II/III) (tabela 4). Costa e Silva *et al* (2010) descreveram no mesmo grupo taxas de NIA I de 41,9% e de NIA III de 28,7%, semelhantes às taxas descritas por Kreuter *et al* (2010), os quais foram de 36,5% de NIA I e 35% NIA III, porém inferiores às de Daumas (2007). Apesar da taxa global de

NIA ter diminuído neste estudo, observamos uma elevação importante da prevalência de NIA severa em relação aos estudos anteriormente realizados na mesma Instituição.

De acordo com Palefsky *et al* (2005), é esperado o aumento da prevalência de NIA no seguimento dos pacientes HIV positivos, particularmente os HSH, principal população que compôs este estudo. É possível que nossos dados reflitam uma eficácia na prevenção da evolução global de NIA, pois esta população tem sido sistematicamente assistida há 06 anos, mas que ao menos em uma parcela desta o controle não esteja sendo efetivo, seja pela história natural da doença, a despeito da TARV, ou pela falta de aderência do paciente ao programa de prevenção do câncer anal, à TARV e ao controle e tratamento precoce das DST anais, as quais parecem favorecer a progressão da NIA (SNOEK *et al*, 2003; SMITH *et al*, 2004).

Tabela 4– Análise dos graus de severidade da NIA em relação à prática do sexo anal receptivo (AR), status do HIV e do HPV.

Variáveis	GRAUS DE NIA						Total	p-valor
	AUSENTE		NIA I		NIA III			
	N	%	n	%	n	%		
<b>AR</b>								
Não	41	60.3	5	45.5	4	30.8	50	<0.001
Sim	27	39.7	6	54.5	9	69.2	42	
	68	100	11	100	13	100	92	
<b>HIV</b>								
Não	30	40.0	0	0.0	0	0.0	30	<0.001
Sim	45	60.0	11	100.0	13	100.0	69	
	75	100	11	100	13	100	99	
<b>HPV Baixo</b>								
Não	46	61.3	1	10.0	2	16.7	49	<0.001
Sim	29	38.7	9	90.0	10	83.3	48	
	75	100	10	100	12	100	97	
<b>HPV alto</b>								
Não	38	51.4	1	9.1	0	0.0	39	<0.001
Sim	36	48.6	10	90.9	13	100.0	59	
	74	100	11	100	13	100	98	
<b>HPV Total</b>								
Não	39	52.0	0	0.0	0	0.0	39	<0.001
Sim	36	48.0	11	100.0	13	100.0	60	
	75	100	11	100	13	100	99	

Teste de Exato de Fisher

Legenda: AR: sexo anal receptivo, HIV: vírus da imunodeficiência humana, HPV: papilomavírus humano

Na análise quanto à prevalência dos diferentes graus de severidade da NIA observados nos pacientes AR, observamos que dos 13 pacientes com NIA severa, 69.2% (9) eram adeptos da prática ( $p < 0.01$ ) (Tabela 4). Palefsky *et al* (2005) descreveram 81% de NIA em HSH, sendo 52% NIA III. Os achados são compartilhados por Abramowitz *et al* (2007), Daumas (2007).

A análise quanto à influência da prevalência da infecção pelo HPV na ocorrência de NIA, verificou que 86,3% (n: 19/22) dos pacientes com diagnóstico de NIA apresentaram infecção pelo HPV de baixo risco (OR: 9,81;  $p < 0.001$ ) e 95,8% apresentaram HPV de alto risco (OR: 23,7;  $p < 0.001$ ) (Tabela 3). Os achados são corroborados por Abramowitz *et al* (2007), que descreveram 90% de prevalência do HPV de alto risco em pacientes com NIA, e por Wong *et al* (2010), que relataram a presença do HPV de alto risco em 75% dos pacientes com NIA e em 89% dos com carcinoma anal.

Ao avaliarmos a variável HPV total (ocorrência de infecção pelo HPV de alto ou baixo risco), nenhum dos 39 pacientes sem infecção pelo HPV de alto ou baixo risco, apresentaram NIA. Portanto, dentre os 60 pacientes infectados pelo HPV ocorreram 100% dos casos de NIA (tabela 3). Dos 13 pacientes com NIA severa, todos apresentaram HPV de alto risco e 83.3%, HPV de baixo risco ( $p < 0.001$ ). Os dados assemelham-se aos descritos por Palefsky *et al* (2005), os quais detectaram o HPV em 98% dos casos de NIA severa e aos de Kreuter *et al* (2010), que demonstraram HPV de alto risco em 100% das amostras de câncer anal. Abramowitz *et al* (2007) destacaram que as taxas de HPV não estão relacionadas à TARV, mas que níveis de linfócitos T CD4+ inferiores a  $200 \times 10^6$  cél/l estariam associados à ocorrência de condiloma.

Verificou-se ainda a possível correlação entre os níveis periféricos de células TCD4+ e a prevalência de NIA, e observamos que dentre os pacientes sem NIA, 75,6%

apresentavam níveis de TCD4 superiores a 250 células/mm<sup>3</sup> (p: 0.023) (tabela 5). Scott *et al* (2008), em uma análise multivariada, verificaram que células TCD4 abaixo de 200 céls/mm<sup>3</sup> constituíram fator de risco para NIA, com OR de 2,6 e p: 0.01. Os achados foram recentemente reiterados por Pokomandy *et al* (2011), que descreveram nos pacientes que apresentaram níveis de células TCD4 < 50 antes do início da TARV, 14 vezes mais chances de desenvolver NIA II e III. Os autores concluíram que a presença de infecção pelo HPV oncogênico, em especial o HPV 16 e o HPV 18 (OR: 14,18; IC: 3,51-57.32), associados a baixo níveis de células TCD4, aumentam o risco da ocorrência de NIA severa.

Movidos pelas revelações de Pokomandy *et al* (2011), observamos em nossa análise que sete pacientes eram portadores de HPV de alto risco e apresentavam células TCD4 < 250/ mm<sup>3</sup>, destes, 42,5% (n: 7), apresentaram NIA, sendo um caso de NIA III e dois casos de NIA I. Para nos certificarmos da força das células TCD4, avaliamos também os 12 pacientes portadores de HPV de alto risco porém com células TCD4 > 250, destes 75% não tinham NIA, e os três casos que a apresentaram foram apenas de baixo grau, corroborando os achados de Pokomandy *et al* (2011).

Tabela 5 – Correlação de NIA com os níveis de linfócitos TCD4+ circulantes

Variáveis	NIA				Total	p-valor
	NÃO		SIM			
	N	%	n	%		
<b>CD4</b>						
Até 100	4	9.8	6	30.0	10	0.055
101 a 250	6	14.6	6	30.0	12	
251 a 500	21	51.2	5	25.0	26	
>500	10	24.4	3	15.0	13	
	41	100.0	20	100	61	
<b>CD4</b>						
Até 250	10	24.4	12	57.1	22	0.023
>250	31	75.6	9	42.9	40	
	41	100.0	21	100	62	

Teste de Exato de Fisher

Legenda: NIA: neoplasia intraepitelial anal.

Em relação à carga viral periférica do HIV-1 e a ocorrência de NIA, observamos que dos pacientes HIV positivos com carga viral < L.min (n: 23), 78,3% (n: 18) não apresentaram NIA (p: 0.03) (tabela 6). Sobhany *et al* (2004) demonstraram aumento significativo de NIA III em pacientes com carga viral elevada, por influencia negativa sobre a densidade das células dendríticas da zona de transição epitelial anal, fundamentais à resposta imune, fatos não encontrados neste estudo. Palefsky e Holly (2003) afirmam que a ocorrência de NIA e neoplasia intraepitelial cervical (NIC) estariam mais relacionadas aos níveis de células TCD4 do que à carga viral do HIV-1.

Tabela 6 – Distribuição e análise dos graus de severidade da NIA e da carga viral periférica do HIV-1.

Variáveis	Ocorrência de NIA						Total	p-valor
	NIA negativo		NIA I		NIA III			
	n	%	n	%	n	%		
<b>Carga viral</b>								
L.min	18	43.9	2	20.0	3	30.0	23	0.03
≤10.000	13	31.7	2	20.0	4	40.0	19	
10.001 a 30.000	3	7.3	4	40.0	0	0.0	7	
30.001 a 50.000	1	2.4	2	20.0	0	0.0	3	
>50.000	6	14.6	0	0.0	3	30.0	9	
<b>TOTAL</b>	41	100.0	10	100.0	10	100	61	

*Teste exato de Fisher*

NIA: neoplasia intraepitelial anal

L.min: limite mínimo

Quanto ao uso da terapia antirretroviral de alta potência, na análise abordando a associação da TARV mais utilizada neste estudo, não houve diferença significativa entre a associação das drogas biovir e efavirenz (n: 13) ou biovir e kaletra (n: 7) e a ocorrência de infecção pelo HPV de alto ou baixo potencial oncogênico (p: 0.085; p: 0.889, respectivamente). Heard *et al* (2004) afirmam que o uso da TARV não resulta em uma menor prevalência da infecção pelo HPV, e, conforme Abramowitz *et al* (2007), indivíduos com níveis de células TCD4 inferiores a  $200 \times 10^6$  células/l teriam 3,22 vezes mais chances de desenvolverem condilomas. Segundo afirmado por Pokomandy *et al* (2010), ainda que haja uma reconstituição do sistema imune com tratamentos

antivirais contra alguns patógenos, déficits imunológicos associados ao HPV persistem em indivíduos que recebem a TARV. Afirmativa esta traduzida em seu estudo quando demonstrou a permanência das taxas de incidência cumulativa de NIA II/III em 4 anos de seguimento. Os autores concluíram que existe algum efeito protetor da TARV traduzido pelo fato de que a TARV, quando utilizada por mais de 04 anos contribuiu com benefícios contra a NIA II e III, e Daumas *et al* (2011) postularam uma possível recuperação das células dendríticas CD1a<sup>+</sup> da mucosa anal em pacientes sob terapia específica.

As diferentes associações de TARV não influenciaram significativamente os níveis das células TCD4 estudadas (p: 0.362; p: 0.92) (DNNDT). No estudo de Daumas *et al* (2011), referente à uma análise feita na mesma instituição no ano de 2006, os autores demonstraram maior eficácia na associação de lamivudina, didanosina e efavirenz em elevar a média das células TCD4 (p: 0.001). Em virtude de as associações de drogas mais frequentes não terem sido as mesmas utilizadas no estudo prévio, estudos de seguimento serão necessários para análise definitiva da eficácia da TARV sobre as células TCD4, visto que seus efeitos benéficos sobre a reconstrução imune estão bem estabelecidos (CESCON *et al*, 2011).

Análise da carga viral do HIV-1. Neste estudo, a carga viral média do HIV-1 foi de 31.175 cópias virais. A carga viral média foi significativamente menor nos pacientes em uso de biovir e kaletra em relação às outras associações de TARV e aos pacientes que não utilizaram a terapia específica (Tabela 7). A variação da TARV nestes pacientes foi de 03 meses a 09 anos.

**TABELA 7 - Influência da TARV sobre a carga viral periférica do HIV-1**

Variáveis	Carga Viral				p-valor
	n	Média	Desvio-Padrão	Mediana	
<b>TARV</b>					
Não	27	34242	67193	6593	0.003*
Sim	39	32248	85571	25	

**TARV 2**

Não utiliza	27	34242	67193	6593	0.019**
Associaç mais freq.	12	23228	56358	25	
2ª associaç mais freq.	8	13524	25402	576	
Outras associaç	19	45829	113410	25	

*Teste de Mann-Whitney\*/Teste de Kruskal-Wallis\*\**

TARV: terapia antirretroviral

Na tabela 8 detalhamos os achados acima e verificamos que 60% (n: 15) dos pacientes HIV positivos que não utilizaram a TARV apresentaram carga viral elevada (de 51 a 30.000 cópias/ $\mu$ l), e que entre pacientes em uso de biovir e efavirenz (n: 11), 45.5% apresentaram carga viral abaixo do limite mínimo. O mesmo ocorreu com 63.2% dos pacientes em uso de outras associações de TARV (p: 0.018). Já o subgrupo em uso de biovir e kaletra (n: 6), 66.7% apresentaram carga viral variando entre 51 a 30.000 cópias/ $\mu$ l. A despeito da pequena amostra desta subanálise, a observação da frequência de distribuição dos dados indicam que a associação biovir e efavirenz e as outras associações possuem efeito superior sobre o controle da reprodução do HIV-1 (tabela 8).

Em uma análise multivariada recente realizada no Canadá entre indivíduos HIV positivos em uso da TARV, observou-se que pacientes com o regime inicial de tratamento com as drogas efavirenz, lopinavir e atazanavir experimentaram um controle mais eficaz da replicação do HIV-1 (CESCON *et al*, 2011).

**TABELA 8 – Variação dos níveis periféricos carga viral do HIV-1 em relação ao tipo de TARV**

Variáveis	TARV 2								Total	p-valor
	NÃO		BIO+EFV		BIO+KAL		OUTRAS			
	N	%	n	%	n	%	n	%		
<b>Carga viral</b>										
<L.min	4	16.0	5	45.5	2	33.3	12	63.2	23	0.018
até 30.000	15	60.0	4	36.4	4	66.7	3	15.8	26	
>30.000	6	24.0	2	18.2	0	0.0	4	21.1	12	
	25	100	11	100	6	100	19	100	61	

*Teste de Exato de Fisher*

Legenda:L.min: limite mínimo. BIO: Biobir; EFV: Efavirens; KAL: Kaletra; TARV: terapia antirretroviral.

Em relação aos níveis periféricos dos linfócitos TCD4, a média foi de 313 céls/mm<sup>3</sup>, estando abaixo da relatada por Orlando *et al* (2010), que avaliaram pacientes de duas nacionalidades diferentes e encontraram média de 468 e 493 céls/mm<sup>3</sup> respectivamente, de Kreuter *et al* (2010) e semelhante ao de Daumas (2007), com média de 398 céls/mm<sup>3</sup>.

Na tabela 9 observamos que quando classificamos as células TCD4 em até 200 céls/mm<sup>3</sup> e superior a 200 céls/mm<sup>3</sup>, 75,4% (n: 46) dos pacientes HIV positivos avaliados, apresentaram linfócitos superiores a 200 céls/mm<sup>3</sup>. Houve correlação com a carga viral do HIV-1, onde 66,7% dos pacientes com células TCD4 inferior a 200 apresentavam carga viral superior a 30.000 cópias/μl. Já dentre os pacientes com células TCD4 maior que 200, apenas 2 pacientes (4,3%) apresentaram carga viral superior a 30.000 cópias (p <0.001). Não observamos correlação significativa com AR, HPV de baixo, elevado risco ou HPV total (DNNDT).

Tabela 9– Distribuição, segundo os níveis de células TCD4, da carga viral sérica periférica do HIV-1.

Variáveis	Células TCD4				Total	OR (IC 95%)	p-valor
	Até 200		>200				
	n	%	n	%			
<b>Carga Viral</b>							
<L.min	1	6.7	22	47.8	23		
Até 30.000	4	26.7	22	47.8	26		
>30.000	10	66.7	2	4.3	12	-	<0.001
	15	100	46	100	61		

*Teste de Exato de Fisher*

Legenda:L.min: limite mínimo



## 6. Conclusões

Os achados apontam a heterossexualidade como um fator de proteção à aquisição do HIV (OR: 11,7;  $p < 0.001$ )

As taxas de infecção pelo HPV de alto e baixo risco foram diretamente influenciada pela ocorrência da coinfeção com o HIV-1 ( $p < 0.01$ ).

Houve diminuição da prevalência de NIA global, 24%, e nos grupos HIV-positivo, 35%, e controle, 0% ( $p < 0.001$ ).

A prevalência de NIA leve (NIA I) foi de 45,8% e a de NIA intermediário e elevado (NIA II/III) foi de 54,2% ( $p < 0.001$ ). Sendo constatada a importante elevação nas taxas de NIA severa.

Houve infecção pelo HPV de baixo risco em 86,3% dos pacientes com NIA (OR: 9,81;  $p < 0.001$ ) e infecção pelo HPV de alto risco em 95,8% dos casos de NIA (OR: 23,7;  $p < 0.001$ ).

Níveis de células TCD4 superiores a 250 células/mm<sup>3</sup> estiveram associadas a não ocorrência de NIA em 75,6% da amostra ( $p: 0.023$ ).

A associação de TARV, biovir e efavirenz e as outras associações testadas possuíram efeito superior a associação biovir e kaletra no controle da replicação do HIV-1 ( $p: 0.018$ ).

Houve correlação inversa entre a carga viral do HIV-1 e as os níveis circulantes das células TCD4 ( $p < 0.001$ ).

## 7. Referências

- ABRAMOWITZ, L., et al. Anal squamous intraepithelial lesions and condyloma in HIV-infected heterosexual men, homosexual men and women: prevalence and associated factors. *AIDS*. 2007; 21: 1457-65.
- APGAR, B.S.; ZOSCHNICK, L. The 2001 Bethesda System Terminology. *American Family Physician*. 2003; 68(10): 1992-8.
- ASCHER, M.S.; WILBER, J.C. Immunofluorescence for serodiagnosis of retrovirus infection. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 114: 246-248, 1990.
- BANDEIRA, C.B., et al. Manejo das lesões suspeitas de neoplasia cervical. *Revista Técnico-científica do grupo hospitalar Conceição*. 2001; 14(1).
- BAZIN, A.R. Rotinas de Diagnóstico e Tratamento das Doenças Infecciosas e Parasitárias. São Paulo: Editora Atheneu; 2005: 52-64.
- BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.N.; NETO, A.G.F. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. 1 ed. São Paulo: EDART, 1976.
- BRANSON, B.M. Point-of-care rapid tests for HIV antibodies. *Journal of Laboratory Medicine*, 27 (7/8): 288-295, 2003.
- BRASIL. Critérios de definição de casos de aids. Ministério da Saúde: Secretaria de Vigilância em Saúde; 2004. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/data/documents/storedDocuments/%7BB8EF5DAF-23AE-4891AD36-1903553A3174%7D/%7B2A9F7D1C-093E-4A04-838084ED432964A5%7D/criterios.pdf>. Acesso em: 19/02/2010 às 18:45h.
- BOSCH, F. X., et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *Journal of Clinical Pathology*, v.55, n.4, April 2002, p.244-265. 2002.
- Centers for Disease Control and Prevention-CDC: EPI-INFO versão 3.3.2. [Windows]. Califórnia: 2005.
- CESCON, A. M., et al. Factors associated with virological suppression among HIV-positive individuals on highly active antiretroviral therapy in a multi-site Canadian cohort. *HIV medicine*, 12, 352-360, 2011.
- CHATURVEDI, A. K., et al. Risk of Human Papillomavirus-Associated Cancers Among Persons with AIDS. *Journal of the National Cancer Institute*, v.101, n.16, p.1120-1130. 2009.
- COSTA E SILVA, I. T., et al. Anal cancer precursor lesions in HIV-positive and HIV-negative patients seen at a tertiary health institution in Brazil. *Acta Cir Bras*, 26(1): 64-71, 2011.
- DAMAY, A., et al. Human Papillomavirus (HPV) Prevalence and Type Distribution, and HPV-Associated Cytological Abnormalities in Anal Specimens From Men Infected With HIV Who Have Sex With Men. *Journal of Medical Virology*, 82:592-596. 2010.

DAUMAS, A.G.P.G. Análise Morfométrica das Células Dendríticas na Mucosa Anal de Pacientes HIV-positivos e Relação com a Lesão Intra-epitelial e o Câncer (dissertação). Manaus (AM): Universidade Federal do Amazonas; 2007.

DAUMAS, A. G. P. G., et al. Morphometric analysis of dendritic cells from anal mucosa of HIV-positive patients and the relation to intraepithelial lesions and cancer seen at a tertiary health institution in Brazil. *Aguardando publicação*.

DELMAS, M.C., et al. Cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women: Prevalence, incidence and regression. European Study Group on natural history of HIV infection in women. *AIDS*. 2000; 14: 1775-84.

DIGENE BRASIL. Disponível  
em:[http://www.digene.com.br/menu/capturahibrida/textopro\\_tocolohpv.asp](http://www.digene.com.br/menu/capturahibrida/textopro_tocolohpv.asp). Acesso em 18/11/2008 às 17:59h.

FERNANDEZ, N.J. Data Review. 2003 - Cancer in HIV-infected population. Disponível em: < [http://goliath.ecnext.com/coms2/browse\\_R\\_R042](http://goliath.ecnext.com/coms2/browse_R_R042)>. Acesso em 15/03/2010.

FILHO, G. L. D. A.; VAL, I. C. C. D. e SILVEIRA, F. A. Infecção por Papilomavírus (HPV). In: (Ed.). *Rotinas de Diagnóstico e Tratamento das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. São Paulo: Atheneu, v.1, 2007. Infecção por Papilomavírus (HPV), p.600-607

FRANCO, E. L. Epidemiology of anogenital warts and cancer. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, v.23, n.3, p.587-623. 1996.

GIMENEZ, F. S., et al. Prevalência de Lesões Precursoras do Câncer Anal em Indivíduos HIV positivos, Atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, Experiência Inicial em Manaus. *Rev bras Coloproct*, 28(1): 072-076, 2008.

HEARD, I.; PALEFSKY, J. M.; KAZATCHKINE, M. D. The impact of HIV antiviral therapy on human papillomavirus infections and HPV-related diseases. *Antivir Ther* 2004; 9:13–22.

KREUTER, A., et al. Clinical spectrum and virologic characteristics of anal intraepithelial neoplasia in HIV infection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v.52, n.4. 2005.

KREUTER, A. et al. Anal carcinoma in human immunodeficiency virus-positive men: results of a prospective study from Germany. *British Journal of Dermatology*, 162, p. 1269-1277, 2010.

\_\_\_\_\_. Imiquimod Leads to a Decrease of Human Papillomavirus DNA and to a Sustained Clearance of Anal Intraepithelial Neoplasia in HIV-Infected Men. *Journal of Investigative Dermatology*, v.128, p.2078-2083. 2008.

LILLO, F.B., et al. Human papillomavirus infection and associated cervical disease in human immunodeficiency virus-infected women: effect of highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis*. 2001; 184: 547-51.

MANZIONE, C. R.; NADAL, S. R. e CALORE, E. E. Oncogenicidade do papilomavírus humano e o grau de neoplasia intra-epitelial anal em doentes HIV positivo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.50, p.282-285. 2004.

MARCHETTI, B., et al. The bovine papillomavirus oncoprotein E5 retains MHC class I molecules in the Golgi apparatus and prevents their transport to the cell surface. *Oncogene*. 2002; 21(51): 7808-16.

MARTINS, C.R. HPV-Induced anal dysplasia: what do we know and what can we do about it? *Hopkins Hiv Rep*. 2005; 13: 3-5.

MELBYE, M.; SPROGEL, P. A etiological parallel between anal cancer and cervical cancer. *Lancet*. 1991; 338: 657-9.

MUÑOZ, N., et al. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *The New England Journal of Medicine*, v.348, n.6, p.518-527. 2003.

NADAL, R.S., et al. Comparação das contagens das células de Langerhans de tecidos contendo carcinoma anal em doentes com e sem infecção pelo HIV. *Rev Bras Coloproct*. 2006; 26(3): 269-74.

NADAL, S. R. e MANZIONE, C. R. Rastreamento e Seguimento dos Portadores das Lesões Anais Induzidas pelo Papilomavírus Humano como Prevenção do Carcinoma Anal. *Revista Brasileiro de Coloproctologia*, v.29, n.2, p.250-253. 2009.

ORLANDO, G., et al. Anal HPV genotypes and related dysplastic lesions in Italian and foreign born high-risk males. *Vaccine* 27, A24-A29, 2009.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E.A.; RALSTON, M.L.; JAY, N. Prevalence and Risk Factors for Human Papillomavirus Infection of the anal canal in Human Immunodeficiency Virus - Positive and HIV-Negative Homosexual Men. *The Journal of Infectious Diseases*. 1998a; 177: 361-7.

PALEFSKY, J. M., et al. High incidence of anal high-grade squamous intra-epithelial lesions among HIV-positive and HIV-negative homosexual and bisexual men. *Aids*. 1998b; 12: 495-503.

PALEFSKY, J. M., et al. Virologic, immunologic, and clinical parameters in the incidence and progression of anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive and HIV-negative homosexual men. *J Acquir Immune Defic-Syndr Hum Retrovirol*. 1998c ; 17: 314-9.

PALEFSKY, J. M. Anal squamous intraepithelial lesion: relation to HIV and human papillomavirus infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1999; 21: 542-8.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A. Immunosuppression and co-infection with HIV. *J Nat Cancer Inst Monogr*, 2003; 31: 41-46.

PALEFSKY, J. M., et al. Anal intraepithelial neoplasia in the highly active antiretroviral therapy era among HIV-positive men who have sex with men. *AIDS*, v. 19, n. 13, p. 1407-1414, 2005.

POKOMANDY, A., et al. HAART and Progression to High-Grade Anal Intraepithelial Neoplasia in Men Who Have Sex with Men and are Infected with HIV. *Clinical Infectious Disease*, 52 (9): 1174-1181, 2011.

ROKA, F., et al. Anal Human Papillomavirus Testing with Digene's Hybrid Capture 2 Using Two Different Sampling Methods. *Dis Colon Rectum*. 2008; 51: 61-66.

SCOTT, H., et al. Routine anal cytology screening for anal squamous intraepithelial lesions in an urban HIV clinic. *Sexually Transmitted Diseases*, 35 (2): 197-202, 2008.

SMITH, J. S., et al. Chlamydia trachomatis and invasive cervical cancer: a pooled analysis of the IARC multicentric case-control study. *Int J Cancer*. 2004; 111(3):431-434.

SNOEK, E. M., et al. Human papillomavirus infection in men who have sex with men participating in a Dutch gay-cohort study. *Sex Transm Dis*. 2003 Aug;30(8): 639-44.

SOBHANI, I., et al. Prevalence of High-Grade Dysplasia and Cancer in the Anal Canal in Human Papillomavirus-Infected Individuals. *Gastroenterology*, v.120, n.4, p. 857-866, 2001.

VAN BEUNINGEN, R., et al. Development of a high throughput detection system for HIV-1 using real time NASBA based on molecular beacons. In: Raghavachari, R. *Genomics and proteomics technologies*, v.4264, p 66-71, 2001.

VAN DEN BERK, G.E.L., et al. Evaluation of rapid immunoassay determine HIV 1/2 for detection of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 and 2. *Journal of Clinical Microbiology*, v.41, n.8, p.3868-3869, 2003.

VUYST, H. D., et al. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: A meta-analysis. *International Journal of Cancer*, v.124, p.1626-1636. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for HIV diagnosis and monitoring of antiretroviral therapy, 2004.

WONG, A. K., et al. Human papillomavirus genotypes in anal intraepithelial neoplasia and anal carcinoma as detected in tissue biopsies. *Modern Pathology*, v.23, p.144-150. 2010.