

**DETECÇÃO E TIPIIFICAÇÃO DE HPV EM LESÕES
CUTÂNEAS E MUCOSAS DE PACIENTES
SOROPOSITIVOS PARA HIV**

Mariana de Gusmão Nunes

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Dermatologia).

Orientadores: Prof^a. Dra. Marcia Ramos-e-Silva
Prof^a. Dra. Ledy do Horto dos Santos Oliveira

Rio de Janeiro
Fevereiro/2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

DETECÇÃO E TIPIFICAÇÃO DE HPV EM LESÕES CUTÂNEAS E MUCOSAS DE PACIENTES SOROPOSITIVOS PARA HIV

Mariana de Gusmão Nunes

Orientadoras: Prof^a. Dra. Marcia Ramos-e-Silva
Prof^a. Dra. Ledy do Horto dos Santos Oliveira

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Dermatologia).

Aprovada por:

Presidente, Prof^a. Dra. Nurimar Conceição Fernandes

Prof^a. Dra. Sueli Coelho da Silva Carneiro

Prof^a. Dra. Silvia Maria Baeta Cavalcanti

Rio de Janeiro
Fevereiro/2006

Nunes, Mariana de Gusmão

Detecção e tipificação de HPV em lesões cutâneas e mucosas de pacientes soropositivos para HIV / Mariana de Gusmão Nunes. – Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Medicina, 2006.

xiv, 96 f. : il. ; 31 cm.

Orientadores: Marcia Ramos-e-Silva e Ledy do Horto dos Santos Oliveira

Dissertação (Mestrado) – UFRJ / Faculdade de Medicina / Dermatologia, 2006.

Referências Bibliográficas: f. 78-92

1. Soropositividade para HIV. 2. Infecções por papilomavírus. 3. Neoplasias cutâneas. 4. Condições pré-cancerosas – Tese. I. Ramos-e-Silva, Marcia. Oliveira, Ledy do Horto dos Santos II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina. III. Título.

Aos meus pais, Celso e Maria Islai, pelo carinho, apoio e compreensão incondicionais. Por permitirem que eu realizasse os meus sonhos e por acreditarem neles. Amo vocês.

Ao meu querido esposo Marcelo, amigo e companheiro de todas as horas. A vida ao seu lado tornou-se especial. Obrigada pelo incentivo mesmo nas horas em que não pude estar com você para me dedicar a este trabalho.

Aos meus irmãos, Márcia e Henrique, que acompanharam de perto toda a jornada que tive de percorrer para chegar até aqui.

Aos meus entes queridos, que não estão mais presentes para comemorarem esta grande vitória, mas que um dia já torceram por mim. Até a próxima...

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que de certa forma contribuíram na realização deste trabalho, em especial:

À orientadora Prof^a. Dra. Marcia Ramos-e-Silva por aceitar participar deste desafio comigo, apontar o caminho a ser percorrido e orientar a melhor forma de fazê-lo.

À orientadora Prof^a. Dra. Ledy do Horto dos Santos Oliveira pela atenção e paciência inesgotáveis durante todos os momentos em que precisei de orientação e de conselhos. Pela dedicação com que me ensinou tudo que sei sobre a prática de laboratório de virologia. Obrigada por servir de porto seguro nos momentos de tempestade desta viagem.

Ao Prof. Dr. Absalom Lima Filgueira, que com sua dedicação e competência conseguiu superar os momentos difíceis e manteve funcionando com qualidade este curso de pós-graduação em Dermatologia. Sem o seu trabalho nada disto teria sentido.

À Prof^a. Dra. Beatriz Moritz Trope por ter me aceitado com todo carinho em seu ambulatório, pela enorme ajuda na seleção dos pacientes, por ter sido conselheira nos momentos difíceis, e principalmente por ter me ensinado a interessante prática do trabalho e do convívio com os pacientes soropositivos para HIV. Passei a admirar e tentar assimilar algumas de suas qualidades: o entusiasmo pela dermatologia, a curiosidade frente a um caso novo ou a um parecer, a forma de respeitar os outros e de se fazer respeitar e, principalmente o compromisso com o doente, com a instituição e com a medicina. Obrigada por tudo.

À Prof^a. Dra. Paula Dadalti por me ensinar, com toda a dedicação, como escrever meu primeiro projeto de pesquisa e como realizá-lo. Obrigada pela base que me deu.

À Dra. Cláudia Soares, pela amizade e enorme ajuda na parte estatística. Obrigada por ter me acolhido e por ter sido tão prestativa e atenciosa. Você trouxe luz quando tudo estava escuro.

Ao Prof. Dr. Juan Piñeiro-Maceira e à Profa. Dra. Tullia Cuzzi por facilitar o meu acesso ao local de armazenagem do material e pela disponibilidade no esclarecimento de dúvidas sobre a histopatologia dos casos estudados.

À amiga Dra. Fernanda Silveira pela ajuda na tradução do resumo. Obrigada pela gentileza.

À amiga Dra. Adriana Abuchar pela ajuda inestimável, que tornou muito mais fácil e agradável esta caminhada. Obrigada pela amizade, pelo companheirismo e por ter sido uma excelente colega de trabalho. A saudade é enorme.

À Dra. Rebeca Maffra, minha atual amiga e confidente, que ficou com a dura tarefa de continuar o trabalho realizado por mim, e que eu tenho certeza, o fará com grande competência.

Às Dras. Carolina Pereira Gonçalves e Melissa Chaves Azevedo e Silva por ajudarem no andamento do ambulatório e nas árduas tarefas de coletar dados e de procurar artigos sempre que solicitadas.

À Dona Eva e às enfermeiras do 5C, por possibilitarem a realização desta dissertação contribuindo com o funcionamento adequado do ambulatório do Hospital Dia, e por terem sido companhias tão agradáveis durante esses anos.

Aos médicos da DIP que encaminharam seus pacientes para participarem do estudo, e tornaram-se bons companheiros de trabalho.

À Dra. Márcia Halpern por estar presente no dia a dia do ambulat

RESUMO

DETECÇÃO E TIPIFICAÇÃO DE HPV EM LESÕES CUTÂNEAS E MUCOSAS DE PACIENTES SOROPOSITIVOS PARA HIV

Mariana de Gusmão Nunes

Orientadores: Prof^a. Dra. Marcia Ramos-e-Silva

Prof^a. Dra. Ledy do Horto dos Santos Oliveira

Resumo da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Dermatologia).

A presença de papilomavírus humano (HPV) de alto risco em uma lesão está associada ao aumento da chance de evolução para neoplasia, principalmente na vigência de imunodepressão, como na infecção por HIV. O objetivo deste estudo foi investigar a freqüência de HPV em lesões cutâneas (verruga vulgar, verruga plana e epidermodisplasia verruciforme) e mucosas (verruga vulgar, condiloma acuminado, neoplasia intraepitelial, papulose bowenóide e carcinoma espinocelular) de pacientes masculinos soropositivos para HIV. Avaliou-se também a freqüência de malignidade e sua relação com o tipo de HPV detectado e com algumas variáveis clínicas (idade, tempo de doença pelo HIV, tempo de evolução das lesões, uso de terapia anti-retroviral, contagem de CD4 menor ou igual a 200 células/mm³, carga viral e presença de HPV na lesão). Estudaram-se 38 lesões de 27 pacientes do Serviço de Dermatologia, HUCFF/UFRJ, no período de 18 meses. O fragmento de biópsia foi submetido à detecção e tipificação de HPV através da reação da cadeia da polimerase com oligonucleotídeos iniciadores genéricos MY09/11 e oligonucleotídeos iniciadores específicos para o gene E6 dos tipos 6, 11, 16 e 18. As lesões indeterminadas foram também testadas para os tipos 31, 33 e 35. A freqüência de HPV foi 63,2%, sendo encontrado HPV tipo 6, 11 ou 16 em 18 lesões e ocorrendo multiinfecção em 3 lesões. A pesquisa do HPV demonstrou baixa taxa de detecção de HPV de alto risco (HPV 16, 18,4%) e nenhum HPV 18, 31, 33 ou 35. 36,8% das lesões já eram pré-malignas ou malignas e a freqüência de displasia moderada ou grave nos pacientes estudados foi maior do que a descrita na população soronegativa para HIV. HPV de alto risco (HPV 16) foi detectado em quatro lesões benignas e HPV de baixo risco (HPV 6) em três lesões genitais pré-malignas. Não houve associação significativa entre as variáveis clínicas e o aumento da prevalência de lesões pré-malignas ou malignas.

Palavras-chave: Soropositividade para HIV, Infecções por papilomavírus, Neoplasias cutâneas, Condições pré-cancerosas

Rio de Janeiro

Fevereiro/2006

ABSTRACT

HPV DETECTION AND TYPIFICATION IN CUTANEOUS AND MUCOSAL LESIONS OF HIV POSITIVE PATIENTS

Mariana de Gusmão Nunes

Orientadores: Prof^ª. Dra. Marcia Ramos-e-Silva

Prof^ª. Dra. Ledy do Horto dos Santos Oliveira

Abstract da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Medicina (Dermatologia).

The presence of high-risk human papillomavirus (HPV) in a lesion is associated with an increased chance of progression to neoplasia, especially in the setting of immunosuppression, as in the case of HIV infection. The objective of this study was to investigate the frequency of HPV in cutaneous (common wart, flat wart and epidermodysplasia verruciformis) and mucosal (common wart, condyloma acuminata, intraepithelial neoplasia, bowenoid papulosis and squamous cell carcinoma) lesions in HIV seropositive male patients. The frequency of malignancy, its association with the HPV type detected and with some clinical variables (age, date of first positive HIV test, lesion evolution time, use of anti-retroviral therapy, CD4 count less than or equal to 200 cells/mm³, HIV viral load and presence of HPV in the lesion) were also assessed. 38 lesions from 27 patients seen at the Dermatology Service, HUCFF/UFRJ, were studied in a period of 18 months. The biopsied fragment was submitted to detection and typing of HPV, through polymerase chain reaction (PCR) with generic primers MY09/11 and specific primers for gene E6 of types 6, 11, 16, and 18. The indeterminate lesions were also tested for types 31, 33 and 35. The frequency of HPV was 63.2%, with detection of HPV types 6, 11 or 16 in 18 lesions and with multiinfection in 3 lesions. The study of HPV showed low detection of high-risk HPV (type 16, 18,4%) and no HPV 18, 31, 33 or 35. 36,8% of the lesions were already pre-malignant or malignant and the frequency of moderate or severe dysplasia was higher in the study patients than that described in the HIV seronegative population. High-risk HPV (type 16) was detected in four benign lesions and low-risk HPV (type 6) in three pre-malignant genital lesions. There was no significant association between the clinical variables and an increase in the prevalence of pre-malignant or malignant lesions.

Key words: HIV Soropositivity, Papillomavirus Infections, Skin Neoplasms, Precancerous Conditions

Rio de Janeiro
Fevereiro/2006

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1	INFEÇÃO PELO HIV	4
2.1.1	Epidemiologia.....	4
2.1.2	Biologia molecular do HIV	5
2.1.3	Patogênese viral	6
2.1.4	Classificação dos HIVs	8
2.1.5	Manifestações clínicas	8
2.1.6	Contagem de células T CD4 e carga viral.....	9
2.2	INFEÇÃO PELO HPV	11
2.2.1	Histórico	11
2.2.2	Propriedades gerais dos PVs.....	12
2.2.3	Biologia molecular dos PVs	12
2.2.4	Patogênese viral	14
2.2.5	Classificação dos HPV's	14
2.2.6	Carcinogênese viral	16
2.2.7	Manifestações clínicas	18
2.2.8	Métodos diagnósticos	26
2.3	HPV E IMUNODEPRESSÃO.....	29
3	OBJETIVOS.....	33
3.1	O PROBLEMA.....	33
3.2	OBJETIVOS	33
3.2.1	Geral	33

3.2.2	Específicos.....	33
4	METODOLOGIA	34
4.1	DESENHO DO ESTUDO	34
4.2	POPULAÇÃO ESTUDADA	34
4.2.1	Critérios de inclusão.....	34
4.2.2	Critérios de exclusão.....	34
4.3	PROCEDIMENTOS DO ESTUDO.....	35
4.3.1	Variáveis coletadas no questionário.....	35
4.3.2	Exame histopatológico	35
4.3.3	Detecção e tipificação do HPV	35
4.3.4	Análise estatística	38
5	RESULTADOS	40
5.1	DESCRIÇÃO DOS PACIENTES QUANTO ÀS CARACTERÍSTICAS SÓCIO-ECONÔMICAS E CULTURAIS.....	40
5.2	DADOS RELACIONADOS À DOENÇA PELO HIV	40
5.2.1	Data do primeiro exame anti-HIV positivo.....	40
5.2.2	Uso de terapia anti-retroviral (TARV)	40
5.3	DADOS RELACIONADOS ÀS LESÕES ESTUDADAS.....	40
5.3.1	Freqüência de lesões pré-malignas ou malignas.....	40
5.3.2	Descrição das lesões estudadas: localizações e laudos histopatológicos.....	41
5.4	DADOS RELACIONADOS À DETECÇÃO DO HPV	41
5.4.1	Freqüência de infecção pelo HPV.....	41
5.5	DADOS RELACIONADOS À TIPIFICAÇÃO DO HPV	41
5.5.1	Relação entre malignidade da lesão e o tipo de HPV detectado	42
5.6	TABELA GERAL DOS PACIENTES.....	43
5.7	ASSOCIAÇÃO ENTRE MALIGNIDADE DA LESÃO E VARIÁVEIS CLÍNICAS	44

5.7.1	Comparação entre as médias de idade, data do 1º exame anti-HIV+, tempo de evolução das lesões e carga viral do grupo de lesões benignas e do grupo de lesões pré-malignas e malignas.....	44
5.7.2	Comparação entre o número de pacientes que faziam uso de TARV, que apresentavam contagem de CD4 < ou = 200 e que tiveram HPV detectado em suas lesões do grupo de lesões benignas e do grupo de lesões pré-malignas e malignas	44
6	DISCUSSÃO	52
7	CONCLUSÕES	59

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ATP	trifosfato de adenosina
BP	pares de base
BPV	papilomavírus bovino
CD4	grupo de diferenciação quatro
CD8	grupo de diferenciação oito
CEC	carcinoma espinocelular
CRFs	formas recombinantes circulantes
DB	doença de Bowen
DNA	ácido desoxirribonucléico
DST	doença sexualmente transmissível
E	região inicial
EQ	eritroplasia de Queyrat
EV	epidermodisplasia verruciforme
HAART	terapia anti-retroviral altamente ativa
HIV	vírus da imunodeficiência humana
HLA	antígeno linfocitário de histocompatibilidade
HPV	papilomavírus humano
ICAM	molécula de adesão celular da superfamília das imunoglobulinas
INFs	interferons
L	região tardia
LCR	região longa de controle
ME	microscopia eletrônica
NCR	região não-codificável
NI	neoplasia intraepitelial
NIC	neoplasia intraepitelial cervical
ORFs	seqüências abertas de leitura
PB	papulose bowenóide

PCR	reação em cadeia de polimerase
PV	papilomavírus
RAP	razão atribuível de prevalência
RNA	ácido ribonucléico
SIDA/AIDS	síndrome da imunodeficiência adquirida
TARV	terapia anti-retroviral
URFs	formas recombinantes únicas
VCAM	molécula de adesão celular da superfamília das imunoglobulinas

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Paciente número 12: Condiloma Acuminado	46
Figura 2	Paciente número 9: Neoplasia Intraepitelial Grau II	46
Figura 3	Paciente número 4: Papulose Bowenóide	47
Figura 4	Paciente número 24: Carcinoma Espinocelular	47
Figura 5	Paciente número 23: Verruga Vulgar	48
Figura 6	Paciente número 17: Epidermodisplasia Verruciforme	48
Figura 7	Paciente número 5: Condiloma Acuminado, histopatologia 400X.....	49
Figura 8	Paciente número 9: Neoplasia Intraepitelial Grau II, histopatologia 400X.....	49
Figura 9	Paciente número 9: Neoplasia Intraepitelial Grau II, histopatologia 400X.....	50
Figura 10	Paciente número 17: Epidermodisplasia Verruciforme, histopatologia 100X.....	50
Figura 11	Pacientes números 20 e 21: PCR – visualização dos produtos amplificados com oligonucleotídeos MY09/11 em gel de eletroforese	51
Figura 12	Pacientes números 4 e 9 : PCR – detecção de amostras positivas para HPV tipo 16 pela técnica de PCR	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Descrição das lesões estudadas: localizações e laudos histopatológicos	41
Tabela 2	Relação entre malignidade da lesão e o tipo de HPV detectado	42
Tabela 3	Descrição de cada paciente quanto à contagem de CD4, à carga viral, ao exame histopatológico, à detecção do HPV e à tipificação do HPV	43
Tabela 4	Comparação entre as médias de idade, data do 1º exame anti-HIV+, tempo de evolução das lesões e carga viral do grupo de lesões benignas e do grupo de lesões pré-malignas ou malignas.....	44
Tabela 5	Comparação entre o número de pacientes que faziam uso de TARV, que apresentavam contagem de CD4 < ou = 200 e que tiveram HPV detectado em suas lesões do grupo de lesões benignas e do grupo de lesões pré-malignas ou malignas	44

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Termo de consentimento livre e esclarecido	76
Anexo 2	Questionário clínico.....	77
Anexo 3	Artigo publicado	79

1 INTRODUÇÃO

O papilomavírus humano (HPV) encontra-se bastante difundido na população mundial, sendo responsável por diversas entidades clínicas. Estima-se que a infecção genital pelo HPV acometa de 30-50% dos adultos sexualmente ativos, apresentando-se clinicamente em apenas 1% dos casos (KOUTSKY 1997, SEVERSON 1999). Por possuir algumas características peculiares, como a incapacidade de sua remoção completa do epitélio infectado, e por causar muitas vezes infecção subclínica, existe uma grande tendência de aumento da sua prevalência (WARD et al. 1994).

Sua importância clínica reside na capacidade de alguns genótipos de induzir transformação oncogênica no epitélio infectado. O vírus HPV possui diversos tipos, sendo os genitais divididos em baixo e alto risco de transformação maligna. A presença de algum tipo de alto risco (como os 16, 18, 31, 33 e 35) em uma lesão, seja ela genital ou não, está associada ao aumento da chance de evolução para neoplasia, principalmente sendo o paciente imunodeprimido (WALBOOMERS et al. 1999, VILLA et al. 2002, BRENNAN et al. 2003).

No Brasil, as estimativas de incidência e mortalidade (2003) apontam o câncer de colo de útero como a terceira neoplasia mais comum entre as mulheres e como a quarta causa de óbito por câncer na população feminina (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2005). Muito do que se sabe hoje sobre oncogênese viral veio dos estudos anteriores sobre o HPV (VILLA et al. 2002). A situação torna-se ainda mais preocupante após o advento da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). A presença do

HIV pode facilitar a infecção primária genital pelo HPV e aumentar a taxa de sua detecção nas lesões, além de promover a persistência ou reativação deste vírus no local infectado, contribuindo para a progressão neoplásica. Pode ainda facilitar a infecção por tipos de alto risco ou a infecção múltipla (mais de um tipo na mesma lesão) (PALEFSKY et al. 1998, GOMOUSSA-MICHEL et al. 2000). A infecção pelo HIV reduz o número de linfócitos T CD4+, diminuindo a vigilância imunológica, uma vez que esses linfócitos são responsáveis pelo reconhecimento da proliferação de clones celulares anormais (SCHECTER 2001).

O câncer de colo uterino é uma condição definidora de Aids/Sida (Síndrome da imunodeficiência humana) desde 1993 (CDC). Tem sido observado nas mulheres com Sida um aumento da prevalência de neoplasias precursoras (neoplasia intraepitelial cervical - NIC), que na população geral é da ordem de 20% e nessas mulheres é de 42% (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2005). As lesões tendem a ser maiores e multicêntricas, mais resistentes, recorrentes e de difícil tratamento (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2005). Alguns estudos documentaram a associação entre infecção por HPV e NIC em pacientes soropositivas para HIV, principalmente quando havia alto grau de imunossupressão (contagem de CD4 menor que 200 células/mm³) (SCHAFER et al. 1991, VERMUND et al. 1991).

Outros estudos indicaram que homens homossexuais soropositivos para HIV possuem alta prevalência de infecção anal por HPV e neoplasia intraepitelial anal (KIVIAT et al. 1993, MELBYE et al. 1994, PIKETTY et al. 2003). Este aumento de prevalência também foi descrito em mulheres e em pacientes soropositivos para HIV que não praticavam sexo anal (PALEFSKY 2000, MARTIN et al. 2001, PIKETTY et al. 2003).

O maior conhecimento do comportamento da infecção pelo HPV em uma população soropositiva para HIV é de extrema importância pela possibilidade de transformação maligna da lesão na presença de tipos de HPV de alto risco. Outras variáveis dessa população também podem estar envolvidas no processo de transformação maligna, como a baixa contagem de CD4. A presença do HIV facilitaria ainda a infecção múltipla e a detecção de tipos genitais de HPV em lesões cutâneas. Desta maneira, as alterações causadas pelo HPV na vigência de infecção pelo HIV poderiam apresentar um comportamento diferente do observado na população geral.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 INFECÇÃO PELO HIV

2.1.1 Epidemiologia

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (Sida) foi reconhecida em meados de 1981, nos EUA, a partir da identificação de um número elevado de pacientes adultos do sexo masculino, homossexuais e moradores de São Francisco ou Nova York, que apresentavam sarcoma de Kaposi, pneumonia por *Pneumocystis carinii* e comprometimento do sistema imune. Concluiu-se então que se tratava de uma nova doença, de etiologia provavelmente infecciosa e transmissível. Posteriormente alguns casos ocorridos no final da década de 70, foram identificados como Sida (MANUAL DE DST 1999).

No Brasil, a Sida foi detectada pela primeira vez em 1982 (MANUAL DE DST 1999). Mais de 15 anos depois, a infecção pelo HIV atingiu níveis de pandemia global e tem se tornado a praga dos dias modernos (QUINN 1999). De acordo com o programa de HIV/AIDS da Organização das Nações Unidas, no fim de 2004 o número de pessoas vivendo com HIV no mundo seria de 39 milhões (35,9 – 44,3), sendo 660.000 somente no Brasil (UNAIDS 2004). De acordo com o Programa de DST/AIDS do Ministério da Saúde/2005, em 2004, 600.000 indivíduos entre 15 e 49 anos estariam vivendo com HIV/SIDA no Brasil, correspondendo a uma prevalência de 0,61% (Intervalo de Confiança 95%: 0,441% - 0,775%), com estimativa média de 208.898 mulheres e 384.889 homens (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2005). Até junho de 2004, foram registrados 362.364 casos de Sida, sendo 69% em homens (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2005). No país, desde a década de 90, a epidemia de HIV/Sida vem

sofrendo uma transição no perfil epidemiológico, resultando em heterossexualização, feminização, pauperização e interiorização (BRITO et al. 2000, FONSECA et al. 2002, MINISTÉRIO DA SAÚDE 2005). A razão de sexos passou para 2 homens para cada mulher em 2000 e houve um aumento no número de casos entre indivíduos com baixo grau de escolaridade e entre usuários de drogas injetáveis (BRITO et al. 2000, FONSECA et al. 2002, RODRIGUEZ-JÚNIOR et al. 2004). Houve ainda uma

Seu RNA contém genes denominados *gag* (grupo de antígenos), *pol* (polimerase) e *env* (envelope), que codificam proteínas estruturais e enzimas comuns a todos os tipos de retrovírus. Possui também 6 a 7 genes únicos dos lentivírus.

O vírion é formado por um envelope lipídico derivado da membrana plasmática da célula hospedeira, onde se inserem as glicoproteínas virais *env*: gp120 (de superfície) e gp41 (transmembrana). Em seguida vêm os componentes do *gag*: a proteína da matriz (p17), que permanece ligada à membrana interna do vírus, a proteína do capsídeo (p24), que forma o anel condensado do cerne viral e a proteína do nucleocapsídeo (p9). As proteínas do grupo *pol*: protease (p11), transcriptase reversa (p51) e a integrase (p32) compõem parte da região interna do cerne e são essenciais para a maturação e a replicação virais (JOSHI et al. 1996, SCHECTER 2001).

2.1.3 Patogênese viral

O HIV-1 infecta primariamente células do sistema imune CD4-positivas, sendo elas linfócitos T, monócitos/macrófagos, células de Langerhans, células dendríticas foliculares, precursores de timócitos e células B (JOSHI et al. 1996). A patogênese do HIV começa com a imunodepressão devido à anormalidade funcional e à depleção seletiva dos linfócitos T helper CD4 (PANTALEO et al. 1993). Os macrófagos e monócitos são infectados de forma persistente (não citolítica) e provavelmente funcionam como reservatório e meio de distribuição do vírus no organismo.

O ciclo vital do HIV se resume em: ligação das glicoproteínas virais (gp120) ao receptor específico da superfície celular (principalmente o CD4); fusão do envelope do vírus com a membrana da célula hospedeira; liberação do cerne do vírus para o citoplasma da célula hospedeira; transcrição do RNA viral em DNA complementar,

dependente da enzima transcriptase reversa e transporte do DNA complementar para o núcleo da célula, onde pode haver integração no genoma celular (provírus) ou permanecer em forma circular isoladamente. O ciclo viral inclui reativação do provírus e produção de RNA mensageiro viral, que se desloca para o citoplasma da célula promovendo a produção de proteínas virais; regulação da síntese de novos genomas virais pelas proteínas produzidas e formação da estrutura externa de outros vírus que serão enviados para a membrana citoplasmática e liberação do vírion recém-formado para o meio circundante, podendo permanecer no fluído extracelular ou infectar novas células (MANUAL DE DST 1999).

A infecção pelo HIV é dividida em 3 fases. Durante a fase inicial, que acontece em 3 a 6 semanas após a infecção, há uma extensa viremia, acompanhada por um grande número de linfócitos T CD4 infectados circulantes. Nesse período há um aumento no número de linfócitos T CD8, invertendo a relação CD4/CD8 (MANUAL DE DST 1999). O desenvolvimento das respostas imune humoral e celular, que ocorre em até 3 meses, diminui a carga viral circulante, levando à fase de latência clínica (PANTALEO et al. 1993, JOSHI et al. 1996).

A fase de latência é caracterizada por um baixo nível de detecção viral e de células infectadas na circulação, além de um declínio gradual das células T CD4 circulantes. O vírus permanece nos órgãos linfóides, onde se multiplica dentro das células T CD4. Assim, por trás dessa fase clinicamente latente acontece um processo dinâmico de progressão da doença, onde por fim as taxas virais chegam a atingir altos índices e ocorre um aumento considerável no número das células infectadas (PANTALEO et al. 1993, JOSHI et al. 1996, HERMANKOVA et al. 2003).

Finalmente, na evolução natural da infecção, após vários anos de latência clínica ocorre 1 a 2 anos de viremia laboratorialmente detectável, juntamente com a

deterioração do sistema imune, levando às doenças oportunistas, sintomas da doença e eventualmente morte (JOSHI et al. 1996).

2.1.4 Classificação dos HIVs

O vírus HIV é dividido em dois tipos: 1 e 2. A análise filogenética das linhagens virais circulantes identificou 3 grupos distintos do HIV-1: M, N e O. A grande maioria das linhagens pertence ao primeiro grupo (maior), que é o responsável pela pandemia atual. O grupo O (de outlier) está limitado à África central. O grupo N (de não-M, não-O ou novo) é o mais recentemente descrito, com poucos casos também na África Central (TAKEBE et al. 2004). O HIV-2 é dividido em 7 subtipos: A, B, C-G (TAKEBE et al. 2004).

2.1.5 Manifestações clínicas

As manifestações clínicas da infecção pelo HIV são divididas em quatro fases: infecção aguda, fase assintomática (latência clínica), fase sintomática inicial ou precoce e Sida. Na infecção aguda, as manifestações podem variar desde quadro gripal até uma síndrome que se assemelha à mononucleose em 50 a 90% dos casos. Além dos sintomas de infecção viral, como febre, adenopatia, faringite, mialgia, artralgia, erupção cutânea, ulcerações muco-cutâneas, hiporexia, adinamia, cefaléia, fotofobia, hepatoesplenomegalia, náuseas e vômitos, os pacientes podem apresentar candidíase oral, neuropatia periférica, meningoencefalite asséptica e síndrome de Guillain-Barré (MANUAL DE DST 1999).

Na fase assintomática, o estado clínico básico é mínimo ou inexistente. Alguns pacientes apresentam linfadenopatia generalizada indolor (MANUAL DE DST 1999).

Na fase sintomática precoce, o paciente pode apresentar sinais e sintomas inespecíficos de intensidade variável, além de infecções oportunistas de menor gravidade, principalmente em pele e mucosas. As manifestações clínicas mais

comuns são sudorese noturna, fadiga, emagrecimento e síndrome da púrpura trombocitopênica imune (sangramentos mínimos associados à trombocitopenia). Entre as infecções oportunistas estão candidíase oral e vaginal, leucoplasia oral pilosa, gengivite, úlceras aftosas orais e faringeanas, diarreia por patógenos entéricos, sinusopatias, herpes simples recorrente e herpes zoster. É ainda nessa fase onde surgem as lesões clínicas causadas pelo HPV (MANUAL DE DST 1999). A Sida é a fase onde se instalam as doenças oportunistas em decorrência da imunodepressão. As doenças oportunistas podem ser causadas por vírus (citomegalovirose, infecção pelo herpes simples, leucoencefalopatia multifocal progressiva, sarcoma de Kaposi), bactérias (micobacterioses, salmonelose, pneumonias, criptosporidiose, isosporíase), fungos (histoplasmose, criptococose), protozoários (toxoplasmose) ou ser neoplasias (linfoma não-Hodgkin, neoplasias intraepiteliais anais e cervicais). É importante assinalar que o câncer do colo de útero (cujo principal fator patogênico é a infecção por HPV) compõe o elenco de doenças que pontuam a definição de casos de Sida na mulher (MANUAL DE DST 1999).

2.1.6 Contagem de células T CD4 e carga viral

A presença de sinais clínicos de imunodeficiência, a contagem de células T CD4 e a quantificação da carga viral são hoje os principais parâmetros utilizados pelos especialistas para iniciar e monitorizar a terapia anti-retroviral (TARV) (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2004).

Desde o início da epidemia, a monitorização das células T CD4 vem sendo utilizada como um parâmetro laboratorial preditivo do prognóstico da doença pelo HIV e como um indicador da magnitude do risco para as principais infecções oportunistas, principalmente em pacientes com doença sintomática. Sua dosagem seriada é utilizada na indicação e na avaliação da necessidade de modificação dos esquemas

anti-retrovirais, na indicação da quimioprofilaxia para infecções oportunistas e no auxílio da abordagem clínica dessas infecções. Alguns especialistas utilizam também a análise do percentual de células T CD4, ao invés de unicamente a contagem absoluta em mm^3 , pelo fato de a primeira sofrer uma menor interferência nos seus valores (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2004).

De forma didática, pode-se dividir a contagem de células T CD4 em quatro faixas: CD4 > 500 células/ mm^3 – baixo risco de doença; CD4 entre 200-500 células/ mm^3 – surgimento de sinais e sintomas menores ou alterações constitucionais, risco moderado de desenvolvimento de doenças oportunistas, como herpes simples recorrente, herpes zoster, tuberculose, leucoplasia pilosa e pneumonia bacteriana; CD4 entre 50-200 células/ mm^3 – alta probabilidade de surgimento de doenças oportunistas como pneumocistose, toxoplasmose do sistema nervoso central, neurocriptococose, histoplasmose, citomegalovirose localizada; CD4 < 50 células/ mm^3 – grave comprometimento da resposta imune, alto risco de vida e de surgimento de doenças oportunistas, como citomegalovirose disseminada, sarcoma de Kaposi, linfoma não-Hodgkin e infecção por micobactérias atípicas (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2004).

Atualmente já estão disponíveis exames que quantificam o nível de RNA viral no plasma, denominados de carga viral. Ela reflete a dinâmica do vírus, por quantificar as partículas que estão sendo produzidas e lançadas na circulação sanguínea, sendo um importante marcador clínico (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2004). Existe uma relação direta entre a quantidade detectada e a rapidez com que a infecção progride, representando a deterioração do sistema imune. Desta forma, a carga viral é muito útil para avaliar a progressão da doença, indicar o início da terapia e determinar a eficácia dos anti-retrovirais (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2004).

Para se avaliar se uma variação na carga viral é significativa ou não, deve-se converter o valor absoluto do número de cópias/ml para logaritmo de 10. Reduções, aumentos ou oscilações entre dois resultados menores do que $0,5 \log_{10}$ (ou 3 vezes em relação ao valor anterior) não são consideradas significativas do ponto de vista clínico (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2004).

Até o momento não existe valor específico de CD4 ou carga viral considerado como ideal para iniciar a TARV para todos os pacientes; as decisões devem ser individualizadas. Baseando-se nos estudos disponíveis, o tratamento no Brasil tem sido indicado para pacientes com contagem de células T CD4 abaixo de $500/\text{mm}^3$ e/ou carga viral acima de 10.000-30.000 cópias de RNA/ml (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2004). Ambas as avaliações devem ser realizadas em períodos de estabilidade clínica, utilizando-se a mesma técnica e o mesmo laboratório, sendo sugerida monitorização a cada 3-4 meses (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2004).

2.2 INFECÇÃO PELO HPV

2.2.1 Histórico

A natureza viral das verrugas humanas foi descrita pela primeira vez há mais de 90 anos por Ciuffo, que demonstrou a transmissão de verrugas vulgares usando filtrados livres de células (CIUFFO 1907 *apud* LOWY 2001). O primeiro papilomavírus (PV) foi descrito em 1933, quando Richard Shope reconheceu o PV do coelho de cauda de algodão (CRPV) como o agente etiológico da papilomatose cutânea nesses animais (SHOPE 1933 *apud* LOWY 2001). Porém, foi somente no final da década de 70 que os cientistas adquiriram reagentes padrão que permitiram a análise mais detalhada deste grupo de vírus. O genoma do PV foi clonado em bactérias, possibilitando o estudo do sequenciamento dos genes e a análise das mutações sistemáticas. O estudo do PV também ganhou força na década de 80, com o desenvolvimento das

técnicas de transformação *in vitro*, que permitiram a análise das funções virais envolvidas na indução da proliferação celular. O PV bovino tipo 1 foi o protótipo para esses estudos de biologia molecular (HOWLEY et al. 2001).

2.2.2 Propriedades gerais dos PVs

Os PVs, até pouco tempo, eram considerados membros da família *Papovaviridae*, juntamente com os poliomavírus (BRENTJENS et al. 2002). Devido à ausência de semelhança entre os genomas dos dois grupos, os PVs passaram a pertencer a uma família única e distinta, denominada *Papillomaviridae* (CHANG et al. 1991, HOWLEY et al. 2001). Os PVs são espécie-específicos, sendo denominados de acordo com seu hospedeiro natural, como PV humano (“human papillomavirus” ou HPV, em inglês) e PV bovino (“bovine papillomavirus” ou BPV, em inglês), entre outros (CHANG et al. 1991, HOWLEY et al. 2001).

2.2.3 Biologia molecular dos PVs

Estruturalmente os PVs são pequenos, de 52-55 nm de diâmetro, não envelopados, com um capsídeo icosaédrico composto por 72 capsômeros. Seu capsídeo consiste em duas proteínas, L1 e L2, de peso molecular de 55.000 daltons e 70.000 daltons, respectivamente (CHANG et al. 1991, HOWLEY et al. 2001).

O genoma viral é formado por uma molécula circular de DNA de dupla-hélice, com aproximadamente 8000 pares de bases. Toda informação genética está contida em uma das fitas do DNA, só sendo transcrito em uma direção (WIKSTRÖN 1995). O genoma é dividido funcionalmente em dois domínios longos, cada um contendo uma série de “seqüências abertas de leitura” (“open reading frames” ou ORFs, em inglês). A região inicial (“early region” ou E, em inglês) representa 45% do genoma e contém as ORFs E1 a E7, que codificam proteínas responsáveis pela regulação da replicação e da transcrição viral. A região tardia (“late region” ou L, em inglês)

representa 40% do genoma e contém as ORFs L1 e L2, que codificam as proteínas do capsídeo viral. Os restantes 15% do genoma, localizados entre L1 e E6, não têm capacidade de codificação, mas possuem elementos importantes na regulação viral. São conhecidos como região não-codificável (“non-coding region” ou NCR, em inglês) ou região longa de controle (“long control region” ou LCR, em inglês) (CHANG et al. 1991). As proteínas virais codificadas pelas ORFs possuem diversas funções: E1 - promove a replicação viral e inibe a integração do vírus no genoma do hospedeiro, mantendo a forma epissômica (extracromossômica). (BRENTJENS et al. 2002).

E2 – além de ter papel na replicação ao se juntar com a proteína E1, a ORF E2 codifica proteínas que estimulam ou inibem a transcrição viral (BRENTJENS et al. 2002). A integração do genoma viral ao DNA celular pode causar uma alteração dessa ORF, levando à perda do controle regulador negativo exercido pela proteína E2, provocando um aumento da expressão das proteínas E6 e E7 (WIKSTRÖN 1995). Outras funções da proteína E2 são: ligar o genoma viral ao cromossomo celular, controlando o número de cópias virais, e induzir apoptose por mecanismo independente da proteína p53 (HEDGE 2002, VILLA et al. 2002).

E3 – ORF de função ainda não bem estabelecida (ALVARENGA et al. 2000).

E4 – induz o colapso da rede de citoqueratinas das células infectadas pelo HPV, levando a sua desintegração e eliminação do vírus (VILLA et al. 2002, BRENNAN et al. 2003).

E5 – promove a transformação maligna juntamente com a proteína E7 ou pela ativação dos fatores de crescimento derivado de plaquetas e epidérmico (BRENTJENS et al. 2002).

E6 e E7– suas proteínas possuem um importante papel na transformação maligna induzida pelo HPV, que será explicado em maiores detalhes no tópico de carcinogênese.

L1 – codifica para a proteína de maior concentração do capsídeo viral (“major protein”, em inglês) (WIKSTRÖM 1995).

L2 – codifica para a proteína de menor concentração do capsídeo viral (“minor protein”, em inglês) (WIKSTRÖM 1995). Parece possuir também funções regulatórias no ciclo de vida do vírus (VILLA et al. 2002).

2.2.4 Patogênese viral

O alvo de todos os tipos de HPVs é a célula do epitélio escamoso. A infecção tem início com a entrada do vírus nas células basais através do epitélio traumatizado, e pode seguir três caminhos: infecção latente, infecção subclínica ou doença clínica. A expressão fenotípica depende de três fatores: tipo viral, fatores ambientais e resposta imune do hospedeiro (GUNTER 2003). Nas infecções subclínicas e clínicas, os genes iniciais do HPV são expressos nas células basais e as proteínas L1 e L2 do capsídeo nos ceratinócitos terminais diferenciados (BRENTJENS et al. 2002).

Evidências clínica e histopatológica da infecção se desenvolvem em cerca de 1 a 8 meses após a exposição. Na ausência de transformação, o HPV segue o ciclo normal da reprodução viral: ligação, penetração, transcrição dos genes, translação, replicação do genoma, maturação e liberação viral. Caso não tratadas, as lesões podem regredir espontaneamente, persistir como benignas, ou progredir para pré-malignas ou, eventualmente, malignas (LOWY et al. 2001, BRENTJENS et al. 2002).

2.2.5 Classificação dos HPVs

Os HPVs são classificados de acordo com sua semelhança genética com tipos identificados previamente (BRENTJENS et al. 2002). Até o momento já foram

identificados mais de 100 tipos, e estima-se que existam muitos ainda não descritos (HOWLEY et al. 2001, BRENNAN et al. 2003). Hoje já é possível o sequenciamento rotineiro das ORFs E6, E7 e L1 dos novos vírus isolados, o que levou à atual definição de um novo tipo, estabelecida pelo Comitê de Nomenclatura do PV: se a

2.2.6 Carcinogênese viral

A associação da infecção por HPV com câncer da cérvix uterina, vulva, vagina, ânus e pênis está bem estabelecida. Diversos estudos mostraram que tais cânceres são precedidos por graus progressivos de neoplasia intraepitelial, também associada com infecção por HPV (GRUSSENDORF-CONEN 1997, GOMOUSA-MICHAEL et al. 2000, ZUR HAUSEN 2000, DE SANJOSÉ et al. 2002). O HPV foi ainda detectado em carcinoma espinocelular (CEC) associado à EV e em cânceres oral (principalmente tonsilar), esofágico e cutâneo não-melanoma, além de ser apontado como provável agente etiológico nos cânceres de cabeça e pescoço (MACKAIG et al. 1998, LOWY et al. 2001).

O câncer cervical constitui hoje o modelo para o estudo da carcinogênese induzida pelo HPV. Em geral ocorre uma evolução de lesão pré-maligna (NIC) para neoplasia. As NICs são divididas em grau I (displasia leve – células atípicas restritas ao 1/3 inferior da epiderme), grau II (displasia moderada – células atípicas localizadas nos 2/3 inferiores da epiderme) e grau III (displasia grave ou carcinoma *in situ* – células atípicas em toda a espessura da epiderme, sem ultrapassar a membrana basal) (GRUSSENDORF-CONEN E-I 1997). Estudos recentes mostraram a detecção de DNA de HPV por reação de polimerase em cadeia (PCR) em até 99,7% dos cânceres cervicais, tornando tal infecção o fator de risco mais importante no desenvolvimento desta doença (WALBOOMERS et al. 1999). Entre os outros fatores de risco, encontramos paridade (especula-se que hormônios liberados na gravidez exercem efeito imunossupressor), uso de anticoncepcionais orais, tabagismo, resposta imunológica do hospedeiro ao HPV, Sida e fatores genéticos como o polimorfismo da proteína p53 (WIKSTRÖM 1995, PINTO et al. 2002, VILLA et al. 2002, BRENNAN et al. 2003).

No câncer de pênis, a circuncisão se comporta como um fator protetor (VILLA et al. 2002). Na cavidade oral, microtraumas, micro-organismos e fatores químicos relacionados ao tabaco e ao álcool podem agir sinergicamente com o HPV, levando ao desenvolvimento de câncer (CHANG et al. 1991, KANG et al. 2001). Na mucosa anal, trauma pelo ato sexual, história de verrugas anais e infecção pelo HIV também são fatores de risco (WIKSTRÖM 1995). Já no câncer que surge na EV, é a radiação ultravioleta que atua como co-carcinógeno (LOWY et al. 2001).

O ciclo celular normal é composto por quatro fases que levam à replicação e à divisão celular, denominadas: G1, onde a célula acumula material citoplasmático; S, onde o DNA é sintetizado; G2, onde são obtidos os materiais necessários para a duplicação celular; e M, onde ocorre a duplicação celular. Cada célula termina seu ciclo de vida através da apoptose (morte celular programada) (BRENNA et al. 2003).

Os genes supressores tumorais codificam proteínas que regulam o crescimento celular e previnem eventos que levam à transformação maligna. O primeiro gene supressor tumoral clonado foi denominado Rb (de retinoblastoma). Ele codifica uma proteína nuclear (pRb), que tem como função o controle inibitório da progressão do ciclo celular, ao se ligar ao fator de transcrição E2F. Outro importante gene supressor tumoral é o p53, que parece ser o de maior mutação nos cânceres humanos. Quando ocorre dano ao DNA ele codifica a proteína nuclear p53, que interage com outras proteínas, resultando na parada do ciclo celular para permitir a recuperação do DNA. Caso não seja possível o reparo do DNA, a p53 sinaliza para proteínas regulatórias, resultando na indução da apoptose (BRENNA et al. 2003).

Os HPVs de alto risco levam à imortalização e à transformação celulares através da sua interação com componentes do ciclo celular. Nas lesões malignas o DNA do HPV está integrado ao genoma celular, e assim alguns genes virais podem manipular

o controle do ciclo celular e promover a persistência e a replicação virais. As proteínas dos genes E6 e E7 dos HPVs de alto risco são as principais responsáveis por esse papel (BRENNAN et al. 2003). A proteína E6 forma um complexo de alta afinidade com a p53, acelerando sua degradação (BRENTJENS et al. 2002). Desta forma, não há recuperação do DNA danificado, levando à instabilidade genômica e ao acúmulo de mutações. A proteína E6 ainda é capaz de interagir com diversas proteínas celulares, como a fibulina 1, que foi envolvida em uma variedade de eventos de transformação e invasão tumorais (VILLA et al. 2002). Já a proteína E7 liga-se à pRb, impedindo sua interação com o fator celular de transcrição E2F, que na sua forma livre, ativa a transcrição na fase S do ciclo celular (WIKSTRÖM 1995). O resultado final é a diminuição da apoptose e o aumento de fatores de crescimento (SCHECTER 2001).

2.2.7 Manifestações clínicas

A infecção pelo HPV se apresenta clinicamente de diversas formas, acometendo pele ou mucosas.

Mucosa oral:

Lesões benignas

Papiloma de células escamosas: lesão solitária, exofítica, esbranquiçada ou acinzentada, com base pedunculada e superfície filiforme ou digitiforme (PRAETORIUS 1997). Mais freqüente da terceira à quinta décadas. Afeta principalmente o palato mole, e também o lábio inferior e a língua (CHANG et al. 1991). Os tipos de HPV detectados são 6, 11, 13, 16 e 32, sendo 6 e 11 os mais freqüentes (GARLICK et al. 1991).

Verruga vulgar: lesão solitária, firme, exofítica, esbranquiçada, com superfície rugosa, séssil e bem circunscrita. Mais comum em adultos jovens. Principais

localizações são lábios, palato, processos alveolares e gengiva. Os tipos de HPV detectados são 2, 4, 6, 11 e 57. Em pacientes soropositivos para HIV, já foram descritos os tipos 7, 13, 18 e 32 (PADAYACHEE 1994, PRAETORIUS 1997).

Condiloma acuminado: lesão exofítica, esbranquiçada, acinzentada ou eritematosa, séssil, com superfície irregular do tipo couve-flor, podendo ser múltipla (PRAETORIUS 1997). Principais localizações são língua, gengiva e lábios (MANGANARO 2000). Os tipos de HPV detectados são 2, 6, 11, 16 e 32, sendo 6 e 11 os mais freqüentes (GARLICK et al. 1991).

Hiperplasia epitelial focal ou doença de Heck: lesão caracterizada por pápula plana ou convexa, amolecida, elevada e séssil, geralmente múltipla. A cor pode variar do eritematoso ao esbranquiçado, de acordo com a ceratinização (PRAETORIUS 1997). É mais freqüente em crianças ou jovens com menos de 18 anos. Parece ser uma manifestação exclusiva da cavidade oral de indivíduos predisponentes, afetando a mucosa bucal, a língua e os lábios. Os tipos de HPV detectados são 1, 6, 11, 13 e 32, sendo 13 e 32 os mais freqüentes, praticamente patognomônicos (CHANG et al. 1991, GARLICK et al. 1991).

Lesões pré-malignas ou malignas

Leucoplasia oral: o subtipo homogêneo é o mais comum e se caracteriza por mácula ou placa esbranquiçada que não pode ser removida. O subtipo não-homogêneo divide-se em três - eritroleucoplasia, leucoplasia nodular e leucoplasia verrucosa - e pode se transformar em neoplasia em 3 a 6% dos casos. Os tipos de HPV detectados são 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35 (CHANG et al. 1991, GARLICK et al. 1991, PRAETORIUS 1997).

Eritroplasia: mácula ou placa eritematosa, brilhante, que não pode ser caracterizada como qualquer outra condição. Quase sempre mostra algum grau de displasia. Parece haver forte associação com HPV 16 (PRAETORIUS 1997).

Carcinoma verrucoso (papilomatose oral florida): variante bem diferenciada do carcinoma de células escamosas, com crescimento lento. Não possui nenhum tipo de HPV particularmente associado (PRAETORIUS 1997).

Carcinoma espinocelular (CEC): lesão maligna. O DNA do HPV está presente em baixo número de cópias nas células dessa lesão, sendo sua patogênese não totalmente esclarecida, uma vez que ele pode ser encontrado na mucosa oral normal. Os tipos de HPV detectados são 2, 6, 11, 16, 18, sendo 16 e 18 os mais freqüentes (CHANG et al. 1991, GARLICK et al. 1991, PRAETORIUS 1997).

Outras lesões orais onde há a suspeita da participação do HPV são líquen plano (HPVs 6, 11 e 16) e leucoplasia oral pilosa (CHANG et al. 1991, GARLICK et al. 1991, PRAETORIUS 1997).

Pele glabra:

Lesões benignas

Verruga comum (vulgar): mais freqüente em crianças e adultos jovens, a maioria permanecendo por meses e regredindo espontaneamente em 2 anos (LOWY et al. 2001). Pode ser solitária ou múltipla, e localiza-se usualmente em áreas expostas (WEEDON et al. 2002). Associa-se com os HPVs tipos 1, 2, 4, 7 e 27 e menos freqüentemente com o 57. A verruga induzida pelo tipo 2 tem uma superfície enrugada, ceratósica, irregular e de coloração marrom-acinzentada. Varia de poucos milímetros a lesões hiperproliferativas confluentes. Localiza-se no dorso das mãos, mas também pode ser palmar, periungueal, plantar, ou surgir na face e na região cervical. A verruga induzida pelos tipos 1 e 4 é mais freqüente nas regiões palmar e

plantar e possui crescimento endofítico, sendo dividida em superficial (em mosaico) e profunda (mimercia) (WEEDON et al. 2002). A lesão localizada nos pontos de pressão da região plantar é dolorosa, única e profunda. Sua superfície é recoberta por uma placa córnea que, quando removida, expõe uma depressão central com pontos de sangramento. A lesão localizada no dorso da mão ou periungueal pode ser elevada e ceratósica. (JABLONSKA et al. 1997, GRUSSENDORF-CONEN et al. 2002). A verruga induzida pelo tipo 7 ocorre principalmente no dorso e na palma da mão de açougueiros e é hiperproliferativa, papilomatosa, do tipo couve-flor, com ceratose proeminente (JABLONSKA et al. 1997, GRUSSENDORF-CONEN et al. 2002). Em pacientes imunodeprimidos, já foi descrito o achado em verruga vulgar dos HPVs tipos 75, 76 e 77 (WEEDON et al. 2002).

Verruga cística: constitui cisto epidérmico plantar induzido pelo HPV 60, e acomete principalmente japoneses (HONDA et al. 1994). Ao contrário da verruga plantar, sua superfície é lisa, com pontilhados hemorrágicos (JABLONSKA et al. 1997). Outras verrugas de inclusão plantar foram descritas associadas aos HPVs tipos 63, 65 e 66 (EGAWA 1994, WEEDON et al. 2002).

Verruga plana: lesão papulosa, plana, pequena, de superfície lisa ou algo ceratósica. Como regra são múltiplas, algumas vezes agrupadas e confluentes, podendo ter distribuição linear pela coçadura (fenômeno de Köebner). Localiza-se no dorso das mãos, na face e nas extremidades inferiores. Pode haver regressão espontânea. Associa-se com HPVs 3 e 10 e com tipos relacionados a eles (28 e 41) (JABLONSKA et al. 1997, LOWY et al. 2001). Na histopatologia encontramos hiperkeratose com camada córnea em “cesto de basquete”, acantose e vacuolização das células da camada granular (WEEDON et al. 2002).

Lesões pré-malignas ou malignas

Epidermodisplasia verruciforme (EV): doença rara, usualmente familiar, de transmissão autossômica recessiva (TRAUNER et al. 2002). Caracteriza-se por susceptibilidade anormal a um grupo específico de HPV (HPV associado à EV) com depressão da imunidade celular (CARRÉ et al. 2003). As manifestações cutâneas surgem na infância e incluem lesões tipo pitiríase versicolor (associadas aos HPVs 5 e 8) e tipo verruga plana (associadas aos HPVs 3 e 10) localizadas no tronco e membros superiores (LOWY et al. 2001, TRAUNER et al. 2002). Evolui com disseminação das lesões, sem tendência à regressão (LOWY et al. 2001). Nas formas com lesões tipo pitiríase versicolor, em 30-60% dos casos ocorre transformação maligna nas áreas fotoexpostas (HARWOOD et al. 1999). Nas lesões causadas pelo HPV 3, o quadro histopatológico se assemelha ao da verruga plana. Nos outros casos, o quadro histopatológico característico desta identidade, que a diferencia da verruga plana, apresenta um efeito citopático específico caracterizado pela presença na camada granulosa de ceratinócitos distendidos com nucleoplasma claro e citoplasma basofílico, finamente vacuolizado, com grânulos grosseiros ceratohialínicos (WEEDON et al. 2002). Lesões idênticas à EV foram descritas em pacientes imunodeprimidos com transplante renal, doença de Hodgkin, Lúpus Eritematoso Sistêmico, linfocitopenia T CD4 idiopática e infecção por HIV (TRAUNER et al. 2002, STETSON et al. 2003). Nos pacientes soropositivos para HIV, as lesões cutâneas tipo EV são relativamente raras, com poucos casos descritos na literatura, sugerindo predisposição genética ao HPV (PROSE et al. 1990, BARZEGAR et al. 1998, TRAUNER et al. 2002, CARRÉ et al. 2003). Nesses casos, elas se assemelharam às da forma clássica do tipo verruga plana, se localizaram na face, no tórax e nas extremidades superiores e não foi descrita progressão para câncer.

Doença de Bowen (DB): constitui CEC *in situ* e apresenta-se como mácula eritematosa de variadas dimensões. Somente 3 a 5% evoluem para CEC invasivo (ELDER et al. 2001). Alguns estudos avaliaram a presença de HPV nessa lesão, tendo sido encontrado em porcentagem variando de 2 a 100%. Entre eles estavam tipos cutâneos (1 e 2), mucosos (6, 11, 16, 34 e 35) e relacionados à EV (5, 20 e 25) (PFISTER et al. 1984, RÜDLINGER et al. 1989, KAWASHIMA et al. 1990, KETTLER et al. 1990, SOLER et al. 1993, SHAMANIN et al. 1996, PFISTER et al. 1997).

Carcinoma espinocelular: neoplasia de células escamosas, com diversas formas de apresentação. Alguns estudos avaliaram a presença de HPV nessa lesão, tendo sido encontrado em porcentagem variando de 2 a 62%. Entre eles estavam tipos cutâneos (2, 4 e 41), mucosos (16, 31, 41 e 51) e relacionados à EV (8, 9, 23, 24 e 38) (GRIMMEL et al. 1988, KAWASHIMA et al. 1990, SOLER et al. 1993, SHAMANIN et al. 1996, PFISTER et al. 1997).

Outras lesões cutâneas onde há a suspeita da participação do HPV são o ceratoacantoma (HPVs relacionados à EV - 36, 37, 38), a ceratose actínica (HPVs relacionados à EV) e o carcinoma basocelular (HPVs cutâneos 4 e 7, mucosos 6 e 16, e relacionados à EV 8, 14, 20, 25, 36 e 38) (TROWELL et al. 1990, KAWASHIMA et al. 1990, LU et al. 1995, SHAMANIN et al. 1996, PFISTER et al. 1997).

Região anogenital:

Lesões benignas

Verruga anogenital: mais freqüente em adultos jovens sexualmente ativos (LOWY et al. 2001). Possui várias formas de apresentação, como pápulas que coalescem formando placas ou múltiplas papilas exofíticas com aspecto similar à couve-flor (condiloma acuminado). Pode ocorrer em locais úmidos e possuir coloração rósea à acinzentada ou em áreas secas e ceratinizadas, com coloração variando da

eritematosa à acastanhada (VON KROGH et al. 1997). Está associada principalmente aos HPVs 6 e 11, e menos freqüentemente aos 2, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 41-45, 51, 56 e 59 (LOWY et al. 2001, WEEDON et al. 2002). Pode evoluir para transformação maligna, passando pelas fases de neoplasia intraepitelial (NI) grau I, grau II e grau III.

Lesões pré-malignas ou malignas

Neoplasia intraepitelial (NI) grau II e III: constitui classificação histopatológica de lesões que estão em processo de transformação maligna. A NI grau II se caracteriza por displasia moderada (células atípicas localizadas nos 2/3 inferiores da epiderme) e a NI grau III por displasia grave ou carcinoma *in situ* (células atípicas em toda a espessura da epiderme, sem ultrapassar a membrana basal) (GRUSSENDORF-CONEN E-I 1997, TROFATTER 1997).

Papulose bowenóide (PB): lesão induzida por tipos oncogênicos de HPV, e que histopatologicamente exibe células atípicas em toda a espessura da epiderme (NI grau III/ carcinoma *in situ*) (WEEDON et al. 2002). Apresenta-se como lesão máculo-papulosa, medindo de 2-10 mm de diâmetro, eritêmato-violácea ou acastanhada, de superfície lisa ou algo papilomatosa/verrucosa, podendo ser múltipla. Ocorre em adultos jovens (média de 28 anos) e sua freqüência de detecção em biópsias chega a 10%. Alguns casos regridem espontaneamente em 1 a 2 anos, e a maioria possui evolução benigna (VON KROGH et al. 1997). Lesão persistente em idosos e em pacientes imunodeprimidos pode progredir para carcinoma invasivo (MICALI et al. 1996, VON KROGH et al. 1997). Deve ser diferenciada da DB pela multiplicidade de lesões, idade de distribuição e comportamento biológico benigno (GRUSSENDORF-CONEN 1997). Os tipos de HPV descritos são 16, 18, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 42, 48, 51, 52, 53 e 54, sendo o 16 o mais freqüente (GODOFREY et al. 2003). Tipos raros

como 13 e 33 já foram descritos em lesão de paciente soropositivo para HIV (ROLIGHED et al. 1991).

Doença de Bowen (DB) / Eritroplasia de Queyrat (EQ): histologicamente é difícil diferenciar PB de DB, pois ambas são carcinoma espinocelular *in situ*. Nas duas lesões, detecta-se HPV 16 ou outro tipo oncogênico em 50–80% dos casos. DB/EQ ocorre em pacientes com 40-50 anos de idade e apresenta-se como uma placa eritemato-descamativa, não-pigmentada, solitária e numular, de crescimento lento e sem regressão espontânea (VON KROGH et al. 1997). Quando localizada na glândula ou no prepúcio é denominada EQ. Ocorre progressão para carcinoma invasivo em 30% dos casos de EQ, principalmente nas áreas que apresentam papilomatose e ulceração, e em 5-10% dos casos de DB (MICALI et al. 1996, AZEVEDO et al. 2001). Metástase ocorre em 20% dos casos de eritroplasia (GRUSSENDORF-CONEN 1997).

Tumor de Buschke-Löwenstein (condiloma gigante): condiloma de crescimento exuberante com expansão local e invasão profunda submaligna, podendo atingir gordura subcutânea e tecidos justapostos. É freqüente a presença de fístulas que drenam secreção purulenta. Apesar de serem encontradas células atípicas e carcinoma *in situ*, não é comum a transformação maligna e são raras as metástases (VON KROGH et al. 1997). Classifica-se como uma entidade intermediária entre o condiloma acuminado e o CEC, e não responde bem a tratamentos conservadores. Os tipos de HPVs associados são 6 e 11 (GRUSSENDORF-CONEN 1997).

Carcinoma espinocelular: lesão maligna. No pênis pode iniciar como uma mácula endurecida e plana ou como uma lesão papilomatosa exofítica, sendo comum a ulceração. Nesta última ocorre crescimento do tipo couve-flor com infecção secundária e destruição intensa. No ânus e na região perianal, a maioria dos tumores

se apresenta como uma massa ulcerada medindo cerca de 4 cm de diâmetro e, raramente, como uma área de drenagem na pele perianal. Os tipos de HPV associados são 16 e 18, principalmente o 16 (GRUSSENDORF-CONEN 1997).

2.2.8 Métodos diagnósticos

Os métodos diagnósticos para detecção do HPV variam desde o exame físico armado, para localizar áreas de infecção subclínica, até técnicas laboratoriais de biologia molecular para identificar e tipificar o vírus.

Exame físico armado:

Teste do ácido acético: usado para lesões em áreas genitais. Consiste na aplicação de ácido acético a 3-5% sobre o epitélio por 5 minutos, levando ao aparecimento de coloração esbranquiçada (lesão acetobranca) (WIKSTRÖM 1995). O teste ajuda a delinear a lesão, principalmente na infecção subclínica, podendo delimitar uma área a ser tratada ou um local para realização de biópsia (WIKSTRÖM 1995). É moderadamente sensível, mas pouco específico, estando associado a um certo grau de falso-positividade, como por exemplo, nas doenças inflamatórias ou no líquen escleroso e atrófico (TROFATTER 1997).

Colposcopia: usada para lesões na área genital. Consiste na observação da área a ser estudada com o auxílio da lente de aumento do colposcópico, com objetivo de identificar lesões malignas ou pré-malignas (WIKSTRÖM 1995). Também auxilia na realização da biópsia e na delimitação da área a ser tratada (WIKSTRÖM 1995).

Métodos laboratoriais de detecção do vírus:

Microscopia óptica: o material a ser visualizado é obtido através do esfregaço (citologia) ou da biópsia (histopatologia). A coilocitose é um dos achados sugestivos de infecção pelo HPV, mas nem sempre está presente (WIKSTRÖM 1995). O coilócito ocorre na infecção com replicação viral ativa e apresenta-se como uma

célula epitelial com núcleo aumentado de tamanho, hipercromático e irregular, cercado por um halo claro citoplasmático (WIKSTRÖM 1995, TROFATTER 1997). Na histopatologia também encontramos hiperplasia da epiderme com acantose, papilomatose, hiperkeratose, parakeratose e disqueratose (WIKSTRÖM 1995, TROFATTER 1997).

Microscopia eletrônica (ME): o material é obtido por biópsia. Visualiza-se a partícula viral medindo 55 nm, com formato icosaédrico (CHANG et al. 1991). Os vírions somente são encontrados no núcleo das células coilocitóticas ou disqueratósicas (CHANG et al. 1991). Estudos demonstraram que a sensibilidade do método para detectar HPV genital varia de 10 a 50% (FERENCZY et al. 1981, CHANG et al. 1991). A ME é um método trabalhoso, demorado e limitado a infecções ativas.

Imunohistoquímica: o material estudado consiste em esfregaços ou biópsias congeladas ou fixadas em formol. São utilizados anti-soros específicos para HPV, que marcam o vírus em atividade (CHANG et al. 1991). Tem como vantagens possibilitar o estudo retrospectivo de grande quantidade de material e indicar a localização do HPV no tecido (YAMAGUCHI et al. 1998). Porém, sua utilização também é limitada à atividade viral, podendo haver resultados falso-negativos (CHANG et al. 1991).

Técnicas de biologia molecular para detecção do DNA viral:

O princípio dessas técnicas é baseado na propriedade que os ácidos nucléicos têm de parear suas fitas complementares por afinidade das bases nitrogenadas. De um modo geral, as reações se fundamentam na tendência das cadeias de DNA de se associarem (anelamento), formando uma dupla hélice, e se separarem (desnaturação), mediante alta temperatura ou tratamento com álcalis. No processo de hibridização, o DNA das sondas (um pequeno fragmento de DNA do

microorganismo que se deseja pesquisar) e o DNA alvo são desnaturados, e o anelamento é feito entre as fitas simples da sonda e do DNA teste, resultando um híbrido.

Hibridização: esse método de biologia molecular veio modificar a pesquisa e o diagnóstico do HPV. A técnica de hibridização utilizada rotineiramente nos laboratórios de análises clínicas é a técnica da Captura do Híbrido, desenvolvida inicialmente pelo laboratório DigeneTM para detecção do DNA de papilomavírus. O material a ser analisado pode ser de esfregaço, corte parafinado ou corte congelado. O método baseia-se em uma hibridização molecular convencional, em que diferentes tipos de sondas de RNA reagem com amostras desnaturadas que podem ou não conter o DNA pesquisado: um coquetel de sondas com tipos de baixo risco oncogênico (HPVs 6, 11, 42, 43 e 44), e outro com tipos de alto risco (HPVs 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52 e 56). O método é revelado por quimioluminescência, cujo princípio técnico pressupõe uma sensibilidade variando em torno de 70% a 90%. Este método, associado à citologia convencional, tem uma sensibilidade de 90% a 100% (HALL et al. 1996).

Reação em cadeia de polimerase (PCR): esta técnica, apesar de ser menos utilizada comercialmente que a captura híbrida, tem melhor sensibilidade e especificidade, sendo de rotina nos laboratórios de pesquisa. Além disso, pode ser usada na tipificação dos HPVs. Sua execução é feita em três fases: - desnaturação do DNA alvo mediante elevação da temperatura, - anelamento ou hibridização entre a cadeia original do DNA desnaturado e o oligonucleotídeo que se ligará à região inicial da seqüência de DNA a ser amplificada ("primers") e - extensão da seqüência de DNA a ser amplificada. Esta última reação é mediada por uma DNA polimerase termoestável, que suporta grandes variações de temperatura, a taq-polimerase,

oriunda do microorganismo *Thermus aquaticus*. Esta enzima catalisa a síntese de seqüências do DNA da amostra inicial, ampliando a região limitada pelos dois extremos de ligação dos oligonucleotídeos iniciadores. Geralmente, o ciclo é repetido 30 a 40 vezes, dando origem a várias cópias do produto de amplificação, conhecido como amplicons. O material amplificado pode ser detectado por eletroforese em gel de agarose, onde os produtos são visualizados de acordo com o seu peso molecular, ou por hibridização, para revelação da presença do DNA viral (CHANG et al. 1991, WIKSTRÖM 1995). Para detectar a presença de HPV são utilizados oligonucleotídeos iniciadores genéricos, e para tipificar o HPV, oligonucleotídeos iniciadores específicos para os tipos que se quer estudar. My09/11 é um exemplo de oligonucleotídeo iniciador genérico, sendo uma mistura essencial de muitos oligonucleotídeos. Isso o torna complementar para o DNA alvo de diferentes tipos de HPV, usualmente com perda da sensibilidade. O produto amplificado por ele é uma seqüência do gene L1 com peso molecular estimado de 450bp. O par MY 09/11 foi primeiramente designado por Manos et al., em 1998, para a detecção de HPV em lesões genitais, mas tem sido usado também para analisar lesões cutâneas (MANOS et al. 1989 *apud* SURENTERAN et al. 1998). Ele possui boa sensibilidade para tipos mucosos, mas baixa sensibilidade para tipos cutâneos e relacionados à EV. Outros pares de oligonucleotídeos genéricos são HVP2/B5 + F14/B15, capaz de detectar a maioria dos tipos cutâneos e mucosos, e CP62/69 + CP65/68, capaz de detectar os tipos relacionados à EV (SURENTERAN et al. 1998).

2.3 HPV E IMUNODEPRESSÃO

As imunidades humoral e celular têm participação na defesa do organismo contra o HPV. A primeira, através de anticorpos neutralizantes, parece ter um papel na prevenção da disseminação do vírus, sendo esta proteção tipo-específica (THOMAS

et al. 2000, LOWY et al. 2001). Já a segunda, através de INFs, HLA-DR, ICAM-1, VCAM-1, interleucinas e citocinas (como TNF- α , fator de permeabilidade vascular e fator de crescimento endotelial vascular), contribui diretamente no combate ao desenvolvimento e à persistência das lesões causadas pelo HPV (JABLONSKA et al. 1997).

Pacientes com supressão do sistema imune, principalmente o celular (como soropositivos para HIV e transplantados), são mais susceptíveis a diversas infecções, inclusive a causada pelo HPV (CUBIE et al. 2000). A infecção pelo HPV pode ser considerada uma das mais freqüentes nos indivíduos transplantados (BAVINCK et al. 1997). Um estudo francês, realizado em 1002 pacientes transplantados de rim, pulmão, fígado e coração, demonstrou uma prevalência de lesões anogenitais de 3,6% em mulheres e 1,7% em homens (EUVRARD et al. 1995). Nesses pacientes, surgem verrugas cutâneas de todos os tipos, dependendo da duração e da intensidade da imunossupressão. Após 5 anos do transplante, a prevalência de verruga cutânea será de 48-92% dos casos, o que indica que a imunidade celular preservada é um importante mecanismo de defesa contra lesões cutâneas induzidas pelo HPV. Parece que o HPV está presente em estado latente na camada basal da epiderme ou nos ceratinócitos do folículo piloso, e que se tornaria ativado com a depressão do sistema imune do hospedeiro (BAVINCK et al. 1997, JABLONSKA et al. 1997).

O uso de drogas imunossupressoras ou a infecção pelo HIV, além de facilitar a infecção primária pelo HPV, pode levar à persistência do vírus, à reativação da infecção latente ou ao aumento da replicação do HPV (ELLERBROCK et al. 2000). Todos esses fatores contribuem para a progressão para neoplasia intraepitelial cutâneo-mucosa, e até para o câncer invasivo, devido ao potencial carcinogênico da

infecção pelo HPV (GOMOUSA-MICHAEL et al. 2000). Parece que há um aumento da integração do DNA viral no DNA do hospedeiro, o que é uma etapa importante na carcinogênese (BAVINCK et al. 1997). Existe ainda um aumento da infecção por HPVs de alto risco nesses pacientes (AYNAUD 1998, CUBIE et al. 2000, GOMOUSA-MICHAEL et al. 2000).

Já foi demonstrada a presença de HPV relacionado à EV em lesões cutâneas malignas ou pré-malignas de pacientes transplantados, o que sugere uma maior associação desse grupo de vírus com câncer cutâneo nesses pacientes (BERKHOUT et al. 1995).

Estudos mostraram que lesões genitais de pacientes HIV-positivos exibem alterações displásicas com maior frequência do que aquelas de indivíduos HIV-negativos (BRYAN et al. 1998, GOMOUSA-MICHAEL et al. 2000). A imunodepressão causada pelo HIV está associada às neoplasias intra-epiteliais cervical e anal, existindo um aumento de várias vezes do risco de infecção cervical por HPV e de NIC em mulheres infectadas pelo HIV (WANG et al. 1995, WIKSTRÖM 1995, DE SANJOSÉ et al. 2002). A gravidade da doença cervical está ligada ao aumento da degradação do sistema imune, principalmente quando a contagem de CD4 for menor que 200 células/mm³, podendo responder ao uso da TARV (HEARD et al. 1998). O risco relativo de câncer anal em homens HIV-positivos é 38, comparado com a população geral, e nas mulheres 6,8 (PALEFSKY et al. 2001). Pacientes HIV-positivos com papulose bowenóide apresentam um risco aumentado de desenvolvimento de câncer invasivo (RUDLINGER et al. 1989).

Ocasionalmente tem sido detectado DNA de HPV em câncer cutâneo de pacientes infectados pelo HIV, mas estudos extensos ainda não foram publicados. Câncer

cutâneo não-melanoma não é incomum nesses pacientes, devido à redução da vigilância imunológica (PFISTER et al. 1997).

Nos pacientes imunossuprimidos são também encontrados tipos genitais em lesões cutâneas (STARK et al. 1994). Um grupo francês detectou a presença de tipos genitais de HPV em verrugas de pacientes transplantados renais utilizando hibridização *in situ*, *southern blot hibridization* e PCR (EUVRARD et al. 1993). Um grupo brasileiro demonstrou a presença de HPVs 31, 33 e 35 em lesões genitais e na mão direita de um paciente com Sida e de HPVs 6 e 11 em verruga plantar de paciente com supressão parcial dos linfócitos T (CAVALCANTI et al. 1998). Em verrugas cutâneas removidas de pacientes com EV e transplantados, tipos mucocutâneos e associados à EV foram detectados juntamente com novos tipos relacionados à EV (BERKHOUT et al. 1995). Mais notável nesse grupo de pacientes foi o encontro de infecção mista em verrugas individuais (BERKHOUT et al. 1995). Esse dado demonstra o espectro diverso de tipos de HPV que podem ser encontrados em lesões cutâneas de indivíduos imunossuprimidos, e enfatiza a importância de se empregar métodos de detecção de HPV que permitam a identificação de múltiplos tipos em uma única lesão e também de tipos novos (SURENTERAN et al. 1998).

3 OBJETIVOS

3.1 O PROBLEMA

Avaliar a presença de HPV em lesões cutâneas e mucosas de pacientes soropositivos para HIV.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Geral

Investigar a freqüência de HPV nas seguintes lesões: verruga vulgar, verruga plana, epidermodisplasia verruciforme, condiloma acuminado, neoplasia intraepitelial, papulose bowenóide e carcinoma espinocelular, de pacientes masculinos soropositivos para HIV.

3.2.2 Específicos

1. Analisar a freqüência de lesões pré-malignas e malignas (epidermodisplasia verruciforme, neoplasia intraepitelial grau II e III, papulose bowenóide e carcinoma espinocelular) nos pacientes estudados;
2. Determinar a presença dos HPVs tipos 6, 11, 16 e 18 nas lesões estudadas;
3. Investigar, nos pacientes estudados, se existe relação entre malignidade da lesão e presença de HPV de alto risco;
4. Avaliar, nos pacientes estudados, se há associação entre malignidade da lesão e as seguintes variáveis: idade do paciente, data do primeiro exame anti-HIV positivo, tempo de evolução das lesões, carga viral, uso de terapia anti-retroviral, alto grau de imunodepressão ($CD4 < \text{ou} = 200 \text{ células/mm}^3$) e presença de HPV na lesão.

4 METODOLOGIA

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo observacional, seccional, realizado em pacientes masculinos e soropositivos para HIV do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), que procuraram o Serviço de Dermatologia (Hospital Dia / Ambulatório de Imunodeprimidos) ou que estiveram internados no Hospital (detectados através do parecer para a dermatologia), de março de 2003 a agosto de 2004 (18 meses).

4.2 POPULAÇÃO ESTUDADA

Optou-se por um estudo somente em pacientes do sexo masculino para evitar peculiaridades do sexo feminino, como dificuldade para o dermatologista em realizar o exame ginecológico, incapacidade de realizar colposcopia e possíveis influências hormonais na oncogênese viral (BRABIN 2002).

4.2.1 Critérios de inclusão

Presença das seguintes lesões: verruga vulgar, verruga plana, epidermodisplasia verruciforme, condiloma acuminado, neoplasia intraepitelial, papulose bowenóide e carcinoma espinocelular;

Soropositividade para HIV;

Sexo masculino;

Idade igual ou superior a 18 anos.

4.2.2 Critérios de exclusão

Sexo feminino;

Idade inferior a 18 anos.

4.3 PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

O paciente selecionado para participar do estudo assinou o termo de consentimento livre e esclarecido e preencheu o questionário clínico-epidemiológico. A lesão estudada foi biopsiada com tesoura, bisturi ou punch, sob anestesia local com lidocaína a 2%, sem vasoconstrictor. Dividiu-se o material coletado em duas partes: uma foi conservada em formol e enviada para estudo histopatológico e a outra foi colocada em frasco específico e armazenada em congelador a -20°C para posterior exame por PCR.

4.3.1 Variáveis coletadas no questionário

Idade, cor, estado civil, escolaridade, profissão, renda familiar, naturalidade, tempo de portador do HIV, uso de terapia anti-retroviral, tempo de uso de terapia anti-retroviral, anti-retrovirais usados, doenças prévias relacionadas ao HIV, tempo de evolução da lesão estudada e o diagnóstico clínico.

4.3.2 Exame histopatológico

Os exames histopatológicos foram realizados de rotina no Serviço de Anatomia Patológica do HUCFF, sendo consideradas lesões benignas o condiloma acuminado, neoplasia intraepitelial grau I, verruga plana e verruga vulgar; pré-malignas, a epidermodisplasia verruciforme, neoplasia intraepitelial grau II e III, papulose bowenóide; e malignas, o carcinoma espinocelular.

4.3.3 Detecção e tipificação do HPV

A detecção e a tipificação do HPV foram realizadas no laboratório de Virologia da disciplina de Virologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense (UFF), sob a supervisão da orientadora do projeto. O método utilizado foi a reação da polimerase em cadeia (PCR).

A amostra do material coletada no HUCFF foi colocada em frasco específico e armazenada por curto período em refrigerador a 0°C. Posteriormente foi transferida para o congelador, onde permaneceu sob temperatura de -20°C, ainda no HUCFF. Semanalmente foi transportada até o laboratório de Virologia da UFF, onde passou pelos seguintes passos de processamento:

1. Extração do DNA:

Digestão por proteinase K: cada amostra foi suspensa em 1000 μ l do tampão de digestão TE (10mM TRIS-HCl pH 7,4; 1mM de EDTA) com Dodecil sulfato de sódio a 20% (SDS), contendo 200 μ g/ml de proteinase K (2mg/ml - GIBCO/BRL), e incubadas em banho maria a 50°C por 6 horas.

Extração por fenol-clorofórmio-álcool isoamílico: foi acrescentado 1ml de fenol-clorofórmio-álcool isoamílico ao material e misturado fortemente por 5 minutos. Em seguida, o material foi centrifugado a 10.000rpm por 5 minutos até se obter uma fase aquosa limpa.

Precipitação do DNA com acetato de sódio e etanol: foram adicionados acetato de sódio (3M pH 6,0) na concentração final de 0,3M e etanol absoluto na concentração final de 70%, e misturados por inversão. O material foi armazenado a -20°C por uma semana e posteriormente centrifugado a 14.000rpm por 30 minutos. Após remoção do sobrenadante, foi feita ressuspensão do material com 1ml de etanol a 70% e nova centrifugação a 14.000rpm por 10 minutos. Após remoção do etanol, foi feita secagem do material e, por fim, ressuspensão em 100 μ l de água destilada.

Verificação da presença do DNA: realizada por eletroforese em gel de agarose a 2%, utilizando 9 μ l de água, 1 μ l da amostra e 2 μ l do corante, conforme detalhamento adiante. Verificou-se a presença de rastro de DNA.

2. Reação de PCR:

Para a amplificação de um fragmento de 450 bp do DNA do HPV localizado no gene L1, genérico para um amplo espectro de tipos genitais de HPV, foram utilizados os oligonucleotídeos iniciadores genéricos (“primers”) My09-My11.

Uma fração de 5 μ l de DNA extraído de cada amostra foi adicionada a 45 μ l da mistura de reação composta por tampão (10mM Tris-HCl pH 8,0, 1mM de EDTA, 10mM de NaCl; concentração 1X), $MgCl_2$ (4 mM/L⁻¹), dNTP (quatro dioxinucleotídeos trifosfatos – deoxiadenina, deoxitimidina, deoxicitidina e deoxiguanosina, na concentração de 1,25mM de cada; total de 200 μ M/L⁻¹ cada), 1pM de cada oligonucleotídeo iniciador genérico, 0,1pM do oligonucleotídeo iniciador β -actina (controle interno da reação que amplifica uma proteína humana nuclear de 330 bp), 1,25U de Taq polimerase e água destilada (para completar o volume da reação). Um tubo contendo a mistura de reação e a amostra, totalizando 50 μ l, foi colocado no termociclador (DNA Thermal Cycler, Pekin Elmer Cetus) e submetido a 35 ciclos de amplificação. Cada ciclo foi composto de elevação da temperatura até 94°C por 5 minutos, desnaturação das fitas de DNA a 94 °C por 1 minuto, pareamento (hibridização) dos oligonucleotídeos iniciadores a 55°C por 2 minutos, polimerização (síntese das fitas de DNA complementares) a 72 °C por 2 minutos e síntese final dos produtos a 72 °C por 10 minutos.

3. Detecção dos produtos de PCR (amplicons):

Após amplificação, os produtos foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2% em TBE (TRIS-EDTA-Borato) 0,5X a 75V e 15mA. Foram utilizados 10 μ l de cada produto da PCR, 2 μ l de corante azul de bromofenol 6X (xileno cianol 0,25%, azul de bromofenol 0,25%, glicerol 30%) e 2 μ l de ladder (marcador de DNA, Invitrogen) de

123bp. Em seguida o gel foi transferido para uma solução de brometo de etídio 0,5 g/ml por 15 minutos e lavado com água por 5 minutos.

O resultado final foi visualizado em transiluminador sob luz UV. O produto amplificado do HPV apresentava peso molecular estimado de 450bp (Figura 11).

4. Tipificação do HPV:

As amostras positivas para a reação acima foram então submetidas à nova amplificação, dessa vez sendo utilizados os oligonucleotídeos iniciadores para o gene E6 dos HPVs tipos 6 e 11, 16 e 18. As amostras negativas não foram submetidas a essa amplificação. Foram executadas as mesmas etapas descritas acima, mudando apenas os ciclos do termociclador: 30 ciclos, 30 segundos a 94°C; 1 minuto a 60°C e 1 minuto a 72°C e para a extensão dos produtos obtidos, 10 minutos a 72°C. As amostras positivas para HPV e negativas para os tipos 6 e 11, 16 e 18 (HPV indeterminado) foram submetidas à nova amplificação, sendo utilizados os oligonucleotídeos iniciadores para o gene E6 dos HPVs tipos 31, 33 e 35 e executadas as mesmas etapas descritas acima.

O produto amplificado do HPV 6 apresenta peso molecular estimado de 230bp; do HPV 11, 89bp; do HPV 16, 134bp; do HPV 18, 119bp; do HPV 31, 97bp; do HPV 33, 132bp e do HPV 35, 186bp.

4.3.4 Análise estatística

Foram utilizados os programas EPIINFO 6.05 e SPSS para entrada e análise dos dados.

Para a descrição da distribuição dos dados foram utilizadas médias, com seus respectivos intervalos de confiança, para as variáveis contínuas, e proporções, para as variáveis categóricas.

Foi estimada a prevalência de HPV nas lesões como um todo e na presença ou não de malignidade. As diferenças entre as características do grupo com lesões pré-malignas ou malignas e do grupo com lesões benignas foram avaliadas usando o teste Mann Whitney para médias e o teste Chi-square para proporções. Foi considerado estatisticamente significativo um alfa igual ou menor que 5%.

Foi estimada a razão de prevalências e seu respectivo intervalo de confiança comparando-se as categorias das diferentes variáveis com a classificação de malignidade das lesões.

5 RESULTADOS

Durante os 18 meses do estudo, foram atendidos no ambulatório de Dermatologia / Imunodeprimidos do Hospital Dia 129 homens HIV-positivos. Foram biopsiadas 38 lesões cutâneo-mucosas de um total de 27 pacientes.

5.1 DESCRIÇÃO DOS PACIENTES QUANTO ÀS CARACTERÍSTICAS SÓCIO-ECONÔMICAS E CULTURAIS

A população estudada apresentou como características mais freqüentes: idade - entre 31 e 50 anos (63%), média de 39 anos, cor - branca, estado civil - solteiro sem companheira/o, escolaridade - 2º grau (51,8%), profissão - aposentado, e renda familiar - até dois salários mínimos.

5.2 DADOS RELACIONADOS À DOENÇA PELO HIV

5.2.1 Data do primeiro exame anti-HIV positivo

A média foi 5 anos e meio (variando de 2 meses a 20 anos), DP de 71 meses.

5.2.2 Uso de terapia anti-retroviral (TARV)

Do total de pacientes, 77,8% (21) estavam em uso de TARV no momento da biópsia.

5.3 DADOS RELACIONADOS ÀS LESÕES ESTUDADAS

5.3.1 Freqüência de lesões pré-malignas ou malignas

A freqüência de lesões pré-malignas ou malignas foi de 36,8% (14 lesões), sendo metade destas, displasia moderada ou grave (18,4% - NIC grau II ou papulose bowenóide).

5.3.2 Descrição das lesões estudadas: localizações e laudos histopatológicos

Tabela 1 - Descrição das lesões estudadas: localizações e laudos histopatológicos

LESÕES MUCOSAS			N de lesões
Tipo clínico-histológico	Localização	Histopatologia	
Lesão benigna	Perianal	Condiloma acuminado	1
Lesão benigna	Coxa	Condiloma acuminado (Figura 1)	1
Lesão benigna	Região pubiana	Condiloma acuminado	3
Lesão benigna	Região inguinal	Condiloma acuminado	3
Lesão benigna	Corpo do pênis	Condiloma acuminado	2
Lesão benigna	Sulco bálcão-prepucial	Condiloma acuminado	2
Lesão benigna	Lábio superior	Condiloma acuminado	1
Lesão benigna	Lábio inferior	Condiloma acuminado	1
Lesão benigna	Lábio superior	Verruga vulgar	1
Lesão benigna	Fossa nasal	Verruga vulgar (Figura 5)	1
Lesão benigna	Corpo do pênis	Neoplasia intraepitelial Grau I	1
Lesão benigna	Glande	Neoplasia intraepitelial Grau I	1
Lesão pré-maligna ou maligna	Região pubiana	Neoplasia intraepitelial Grau II (Figura 2)	1
Lesão pré-maligna ou maligna	Mucosa jugal	Neoplasia intraepitelial Grau II	1
Lesão pré-maligna ou maligna	Períneo	Papulose bowenóide	1
Lesão pré-maligna ou maligna	Bolsa escrotal	Papulose bowenóide	1
Lesão pré-maligna ou maligna	Corpo do pênis	Papulose bowenóide (Figura 3)	1
Lesão pré-maligna ou maligna	Sulco bálcão-prepucial	Papulose bowenóide	1
Lesão pré-maligna ou maligna	Glande	Papulose bowenóide	1
Lesão pré-maligna ou maligna	Bolsa escrotal	Carcinoma espinocelular (Figura 4)	2
LESÕES CUTÂNEAS			N de lesões
Tipo clínico-histológico	Localização	Histopatologia	
Lesão benigna	Membro inferior	Verruga vulgar	3
Lesão benigna	Membro superior	Verruga vulgar	1
Lesão benigna	Membro superior	Verruga plana	1
Lesão benigna	Região cervical	Verruga plana	1
Lesão pré-maligna ou maligna	Membro superior	Epidermodisplasia verruciforme (Figura 6)	5

5.4 DADOS RELACIONADOS À DETECÇÃO DO HPV

5.4.1 Freqüência de infecção pelo HPV

A freqüência do vírus nas 38 lesões foi de 63,2% (24), sendo 70,8% (17) de freqüência nas lesões benignas e 50% (7) nas pré-malignas ou malignas.

5.5 DADOS RELACIONADOS À TIPIIFICAÇÃO DO HPV

Das 38 lesões estudadas, encontrou-se HPV tipo 6, 11 ou 16 em 18 (47,4%). A freqüência de HPV 16 foi 18,4% (7 lesões). Ocorreu multiinfecção (mais de um tipo

de HPV) em 3 lesões genitais histologicamente classificadas como condiloma acuminado, sendo elas: tipos 11 e 16, tipos 6 e 16 e tipos 6 e 11. Não houve detecção do tipo 18. Os tipos 31, 33 e 35 também não foram detectados nas amostras que continham HPV de tipo indeterminado.

5.5.1 Relação entre malignidade da lesão e o tipo de HPV detectado

Tabela 2 – Relação entre malignidade da lesão e o tipo de HPV detectado

LESÕES BENIGNAS			
Quantidade	Histopatologia	Tipificação do HPV	Presença de tipo de baixo risco
3	Condiloma acuminado	6	Sim
3	Condiloma acuminado	11	Sim
1	Condiloma acuminado	16	Não
1	Condiloma acuminado	6, 11	Sim
1	Condiloma acuminado	6, 16	Não
1	Condiloma acuminado (Figura 7)	11, 16	Não
1	Condiloma acuminado	Indeterminado	Indeterminado
3	Condiloma acuminado	Negativa	Negativa
1	Neoplasia intraepitelial grau I	Indeterminado	Indeterminado
1	Neoplasia intraepitelial grau I	Negativa	Negativa
1	Verruga vulgar	16	Não
3	Verruga vulgar	Indeterminado	Indeterminado
2	Verruga vulgar	Negativa	Negativa
1	Verruga plana	6	Sim
1	Verruga plana	Negativa	Negativa
LESÕES PRÉ-MALIGNAS OU MALIGNAS			
Quantidade	Histopatologia	Tipificação do HPV	Presença de tipo de alto risco
3	Papulose bowenóide	6	Não
2	Papulose bowenóide	16	Sim
1	Neoplasia intraepitelial grau II (Figuras 8 e 9)	16	Sim
1	Neoplasia intraepitelial grau II	Negativa	Negativa
2	Carcinoma espinocelular	Negativa	Negativa
1	Epidermodisplasia verruciforme	Indeterminado	Indeterminado
3	Epidermodisplasia verruciforme (Figura 10)	Negativa	Negativa
1	Epidermodisplasia verruciforme	Sem material	Sem material

Indeterminado = HPV detectado, negativo para os tipos estudados.

Negativa = HPV não detectado, tipificação não realizada.

5.6 TABELA GERAL DOS PACIENTES

Tabela 3 – Descrição de cada paciente quanto à contagem de CD4, à carga viral, ao exame histopatológico, à detecção do HPV e à tipificação do HPV

Paciente nº	CD4	CV	Histopatológico	HPV	Tipo
1	182	9000	Condiloma acuminado	Sim	Indeterm.
2	38	310000	Condiloma acuminado	Sim	16
3	618	390000	Verruga vulgar	Sim	16
4	198	<80	Papulose bowenóide	Sim	16
4	198	<80	Papulose bowenóide	Sim	16
5	80	17750	Condiloma acuminado	Sim	11, 16
5	80	17750	Epidermodisplasia verruciforme	Não	-
6	131	130	Epidermodisplasia verruciforme	Não	-
7	59	<80	Condiloma acuminado	Sim	6
7	59	<80	Condiloma acuminado	Sim	6
8	15	690000	Papulose bowenóide	Sim	6
8	15	690000	Verruga plana	Não	-
9	284	<80	Neoplasia intraepitelial grau II	Sim	16
10	399	<80	Condiloma acuminado	Sim	6, 16
11	20	-	Verruga vulgar	Sim	Indeterm.
12	1175	1800	Condiloma acuminado	Sim	11
13	447	4600	Condiloma acuminado	Não	-
14	106	2140	Condiloma acuminado	Sim	11
14	106	2140	Epidermodisplasia verruciforme	Não	-
14	106	2140	Papulose bowenóide	Sim	6
15	560	17000	Condiloma acuminado	Sim	6
15	560	17000	Epidermodisplasia verruciforme	Aus	-
15	560	17000	Condiloma acuminado	Não	-
16	284	<80	Condiloma acuminado	Não	-
17	577	1350	Epidermodisplasia verruciforme	Sim	Indeterm.
17	577	1350	Neoplasia intraepitelial grau II	Não	-
18	537	<80	Verruga vulgar	Sim	Indeterm.
19	116	<80	Condiloma acuminado	Sim	11
20	22	120	Neoplasia intraepitelial grau I	Sim	Indeterm.
21	243	26900	Condiloma acuminado	Sim	6, 11
22	367	<80	Verruga vulgar	Sim	Indeterm.
23	244	120	Verruga vulgar	Não	-
24	25	-	CEC	Não	-
24	25	-	CEC	Não	-
25	689	18000	Neoplasia intraepitelial grau I	Não	-
26	150	<80	Verruga vulgar	Não	-
27	172	<80	Verruga plana	Sim	6
27	172	<80	Papulose bowenóide	Sim	6

CD4= contagem de CD4, está em células/mm³. CV= carga viral, está em cópias/ml. HPV= detecção de HPV. Indeterm.= indeterminados

5.7 ASSOCIAÇÃO ENTRE MALIGNIDADE DA LESÃO E VARIÁVEIS CLÍNICAS

5.7.1 Comparação entre as médias de idade, data do 1º exame anti-HIV+, tempo de evolução das lesões e carga viral do grupo de lesões benignas e do grupo de lesões pré-malignas e malignas

Tabela 4 – Comparação entre as médias de idade, data do 1º exame anti-HIV+, tempo de evolução das lesões e carga viral do grupo de lesões benignas e do grupo de lesões pré-malignas ou malignas

Variáveis	Lesão benigna	Lesão pré-maligna ou maligna	p-valor
	Média	Média	
Idade (anos)	38	42	0,798
Data do 1º. exame HIV + (meses)	77	74	0,601
Tempo de evolução das lesões (meses)	27	38	0,520
Carga viral (cópias/ml)	65843	60000	0,619

Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias das variáveis no grupo de lesão benigna e no grupo de lesão pré-maligna ou maligna.

5.7.2 Comparação entre o número de pacientes que faziam uso de TARV, que apresentavam contagem de CD4 < ou = 200 e que tiveram HPV detectado em suas lesões do grupo de lesões benignas e do grupo de lesões pré-malignas e malignas

Tabela 5 – Comparação entre o número de pacientes que faziam uso de TARV, que apresentavam contagem de CD4 < ou = 200 e que tiveram HPV detectado em suas lesões do grupo de lesões benignas e do grupo de lesões pré-malignas ou malignas

Variáveis	Lesão benigna	Lesão pré-maligna ou maligna	p-valor
	Nº de pacientes (porcentagem)	Nº de pacientes (porcentagem)	
Uso de TARV	17 (70,8%)	11 (78,6%)	0,715
Contagem de CD4 < ou = 200 células/mm ³	12 (50%)	10 (71,4%)	0,309
Deteção de HPV	17 (70,8%)	7 (50%)	0,289

Razão de prevalência de 1,36

Razão de prevalência de 1,82

Razão de prevalência de 0,58

Usar TARV se relacionou com aumento da prevalência de lesão pré-maligna ou maligna (23,6%) (Risco Atribuível de Prevalência (RAP) de 23,6%), porém este resultado não foi estatisticamente significativo.

Apresentar contagem de CD4 menor ou igual a 200 células/mm³ se relacionou com aumento da prevalência de lesão pré-maligna ou maligna (45%) (RAP de 45%), não sendo este resultado estatisticamente significativo.

A detecção de HPV na lesão se relacionou com diminuição da prevalência de lesão pré-maligna ou maligna (41,7%) (RAP de 41,7%), não sendo este resultado estatisticamente significativo.

ILUSTRAÇÕES



Figura 1 - Paciente número 12: Condiloma Acuminado



Figura 2 - Paciente número 9: Neoplasia Intraepitelial Grau II



Figura 3 - Paciente número 4: Papulose Bowenóide



Figura 4 - Paciente número 24: Carcinoma Espinocelular

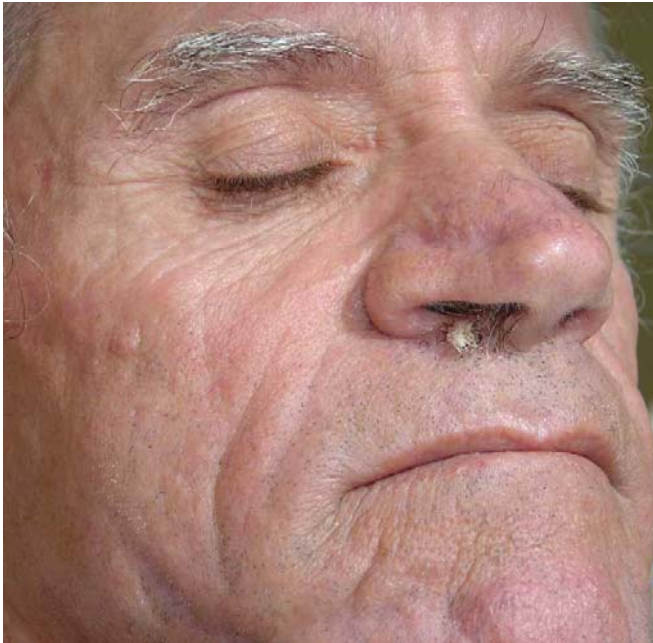


Figura 5 - Paciente número 23: Verruga Vulgar



Figura 6 – Paciente número 17: Epidermodisplasia Verruciforme

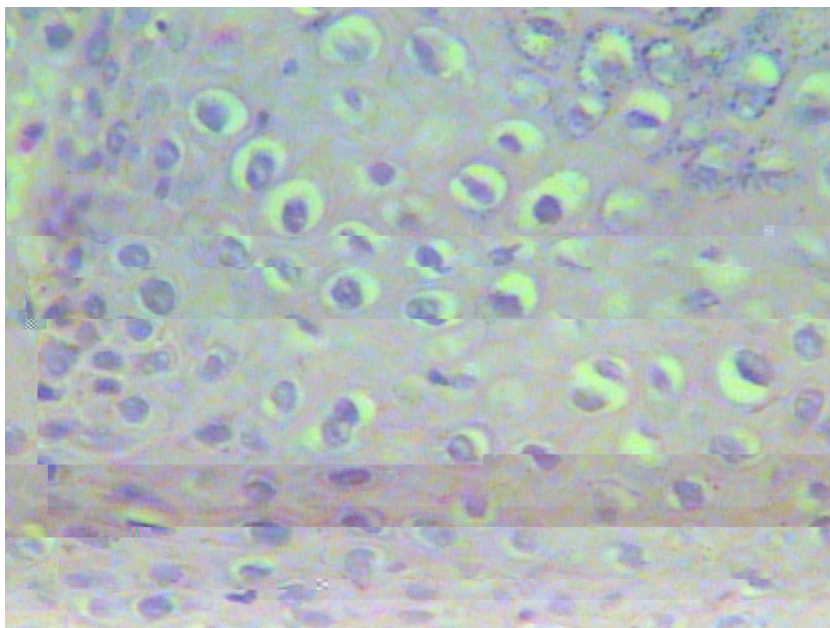


Figura 7 - Paciente número 5 (Condiloma Acuminado), HE 400X: coilócitos - células epiteliais com núcleo aumentado de tamanho, hiper Cromático e irregular, cercado por um halo citoplasmático.

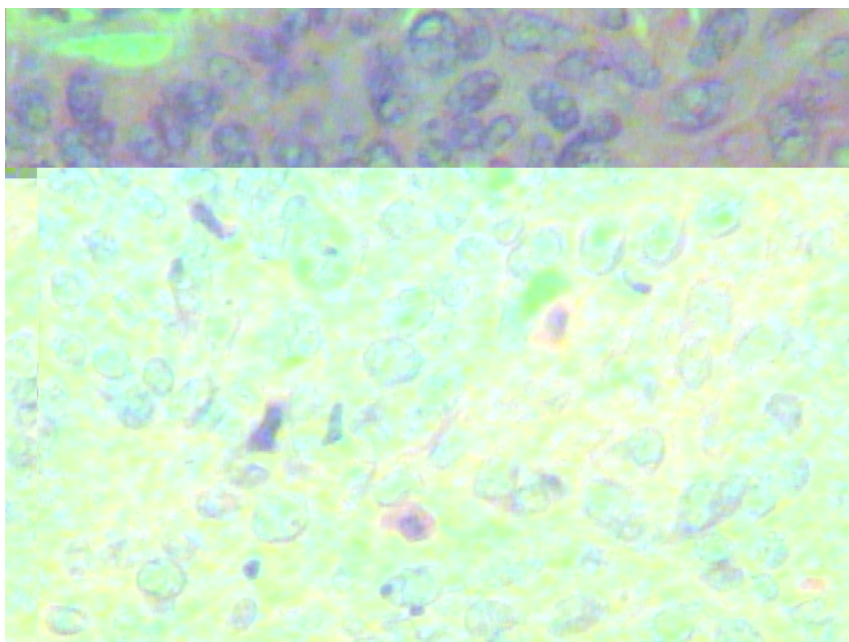


Figura 8 - Paciente número 9 (Neoplasia Intraepitelial Grau II), HE 400X: células em mitose, ceratinócitos apoptóticos, núcleos bizarros e agrupados, perda da polarização celular.

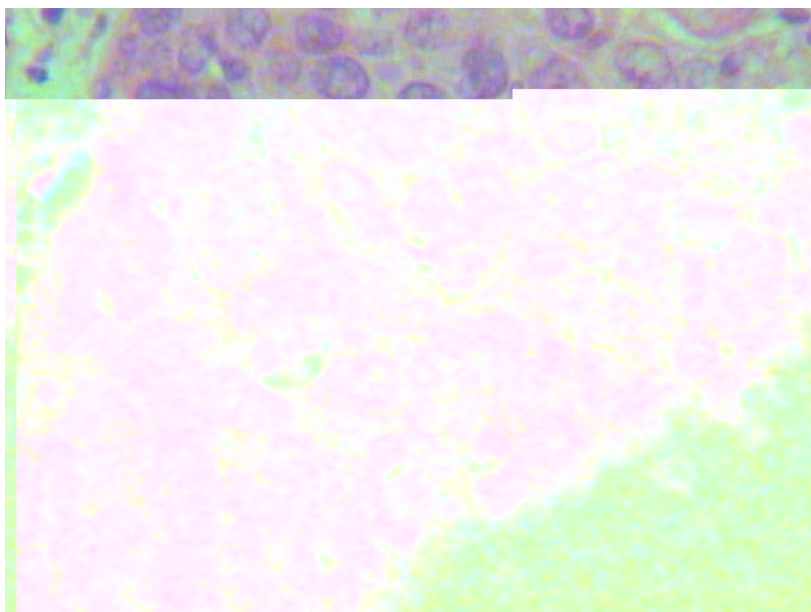


Figura 9 - Paciente número 9 (Neoplasia Intraepitelial Grau II), HE 400X: células em mitose, ceratinócitos apoptóticos, núcleos bizarros e agrupados, perda da polarização celular.

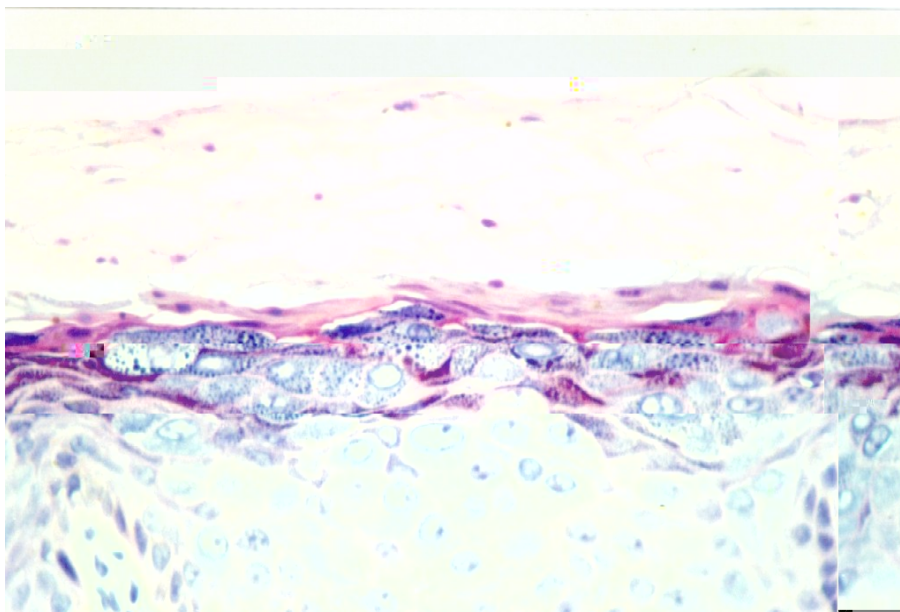


Figura 10 - Paciente número 17 (Epidermodisplasia Verruciforme), HE 100X: hiperqueratose, paraceratose e hipergranulose. Presença na camada granulosa de ceratinócitos distendidos com citoplasma basofílico e finamente vacuolizado, com grânulos grosseiros ceratohialínicos.

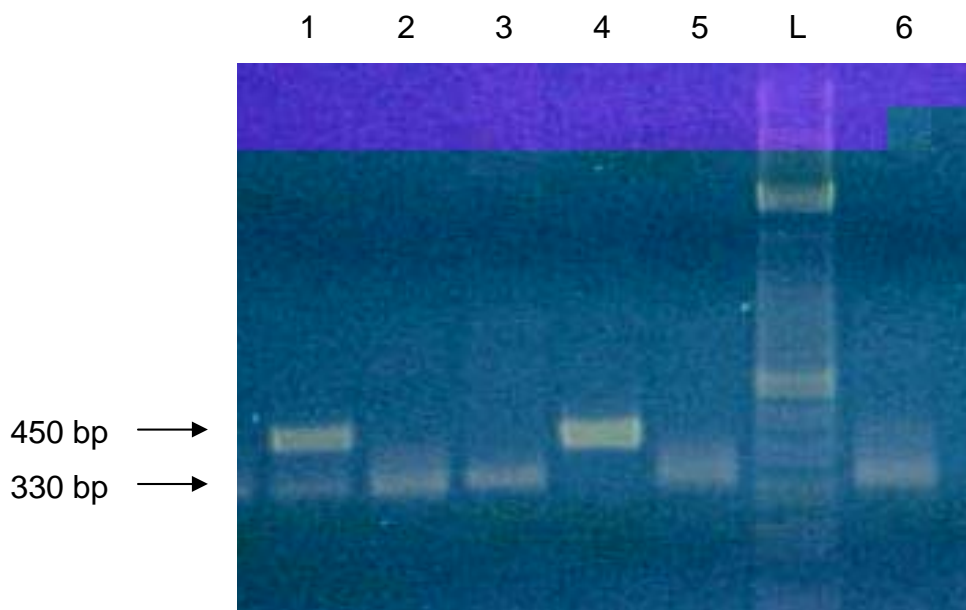


Figura 11 – Pacientes números 20 e 21: PCR – visualização dos produtos amplificados (450 bp) com os oligonucleotídeos My09/11 em gel de eletroforese. As amostras 1 e 4 são positivas para HPV e as amostras 2, 3, 5 e 6, negativas. Uma seqüência de 330 bp do gene para actina humana é usada como controle interno da reação.

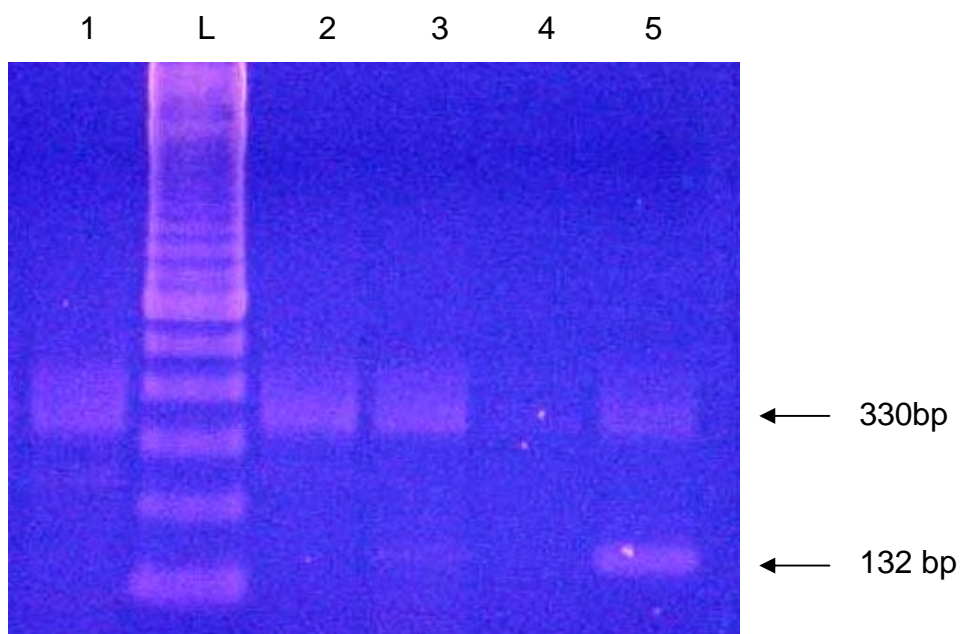


Figura 12 – Pacientes números 4 e 9: PCR – detecção de amostras positivas (3 e 5) para HPV tipo 16 pela técnica de PCR com amplificação da seqüência E6 do DNA específico com 132 bp. Comparação com o DNA padrão -100bp. Uma seqüência de 330 bp do gene para actina humana é usada como controle interno da reação.

6 DISCUSSÃO

A imunodepressão decorrente da infecção pelo vírus HIV facilita a transformação oncogênica causada pelo vírus HPV. O presente estudo justifica-se por esta relação entre ambos os vírus. Dentre os diversos tipos de HPV, optou-se pela pesquisa dos tipos 6, 11, 16 e 18 por serem os mais prevalentes nas lesões genitais. Os casos negativos foram ainda testados para os tipos 31, 33 e 35 por serem tipos de alto risco para a transformação maligna, também prevalentes nas lesões genitais. Resolveu-se incluir lesões de qualquer localização por tratar-se de um estudo que servirá de pilar para futuros projetos.

No Brasil, estima-se que 67,8% dos casos de Sida encontram-se na faixa etária entre 15 e 34 anos, portanto os pacientes avaliados têm idade mais elevada (MINISTÉRIO DA SAÚDE 1999). O grupo estudado mostrou alto nível de escolaridade, sem analfabetos, diferente dos pacientes soropositivos para HIV da população brasileira (COHN 2000, COHN 2001). Esse fato pode ser explicado por ser o HUCFF/UFRJ um centro terciário de referência em HIV e por todo paciente soropositivo, mesmo com boa condição econômica, necessitar de uma matrícula na rede pública para ter acesso aos medicamentos.

A ausência de correlação estatística entre as variáveis analisadas pode ser explicada pela homogeneidade da população estudada e pelo pequeno número da amostra. Apesar da alta incidência de lesões perianais nos soropositivos para HIV, só houve um paciente com lesão nesta localização porque os pacientes passaram a ser encaminhados para o ambulatório de proctologia.

Como era de se esperar, levando em conta que mais da metade das lesões estudadas localizava-se na mucosa genital, encontrou-se 34,2% de condiloma acuminado (HANDSFIELD 1997, SEVERSON et al. 2001).

Gomousa-Michael et al., em 2000, avaliaram infecção por HPV genital e neoplasia intraepitelial (NI) em setenta homens infectados por HIV e encontraram displasia moderada ou grave em 33,3% dos pacientes HIV-positivos, comparado com 5% dos pacientes HIV-negativos (GOMOUSA-MICHAEL et al. 2000). Estudo realizado por Aynaud em 1998 comparou lesões anogenitais causadas pelo HPV em homens soropositivos e soronegativos para HIV, e encontrou displasia de alto grau em 29,3% das lesões dos pacientes HIV-positivos e em 5% das lesões dos pacientes HIV-negativos (AYNAUD 1998). No presente estudo a freqüência de displasia moderada ou grave (NI grau II ou papulose bowenóide) foi de 18,4%, apresentando-se mais alta do que nas populações de pacientes HIV-negativos mencionadas acima. Isto corrobora a hipótese da transformação maligna ocorrer com maior freqüência nos imunodeprimidos.

Outro achado extremamente relevante no estudo foi o diagnóstico de epidermodisplasia verruciforme em cinco lesões cutâneas, que clinicamente se apresentavam como verrugas planas localizadas em áreas fotoexpostas. Lesões semelhantes à EV em pacientes HIV-positivos têm sido cada vez mais descritas. Questiona-se se seria a clássica EV em pacientes HIV-positivos geneticamente predispostos, ou uma nova entidade clínica, com comportamento menos agressivo nesses pacientes (BARZEGAR et al. 1998, TRAUNER et al. 2002, CARRÉ et al. 2003).

Em relação à detecção do HPV nas amostras estudadas, encontrou-se positividade para 63,2% dos casos, utilizando-se os pares de oligonucleotídeos MY09/11. A não

detecção do HPV em algumas amostras pode ser justificada de diversas formas. Inicialmente, a escolha do par de oligonucleotídeos tem enorme valor no resultado final. Em 1998, Suretheran et al. avaliaram a sensibilidade e a especificidade de 3 pares de oligonucleotídeos degenerados. O par My09/11 foi o mais sensível para tipos mucosos, mas só foi capaz de detectar os tipos cutâneos quando havia alto número de cópias. Os autores verificaram que a utilização combinada dos pares degenerados mostrou a maior detecção de DNA do HPV quando comparada com os pares utilizados isoladamente (SURETHERAN et al. 1998). Causas relativas ao material coletado poderiam ser baixo número de cópias de DNA na amostra (lesões antigas, periferia da lesão), falta de células positivas em biópsias pequenas, presença de novo tipo de HPV ainda não identificado ou mesmo ausência de HPV naquela amostra. O excesso de ceratinização do material estudado seria uma causa relacionada à execução da técnica, e dificultaria a extração do DNA, conforme ocorreu em uma das amostras. Os fragmentos cutâneos são de difícil digestão, mesmo com maior tempo de incubação e de concentração da proteinase K.

Gomousa-Michael et al., em 2000, também encontraram uma elevada prevalência de HPV de alto risco – 16/18, 31/33/35 - nos pacientes HIV-positivos (50%), comparada com os pacientes HIV-negativos (5%) (GOMOUSA-MICHAEL et al. 2000). Aynaud, em 1998, encontrou 35% de HPV de alto risco nas lesões anogenitais de pacientes HIV-positivos e 12% nas lesões de pacientes HIV-negativos (AYNAUD 1998). Na presente investigação, a taxa de detecção de HPV de alto risco (tipo 16) foi baixa (18,4%), ocorrendo somente em sete lesões, não havendo detecção dos HPVs 18, 31, 33 e 35. Não seria esperada detecção do tipo 18, uma vez sua prevalência na população geral é baixa (em torno de 15%); talvez com uma casuística maior, possase detectá-lo. Um grupo de Brasília estudou a prevalência de HPV em 59 amostras

de câncer peniano e também não detectou HPV 18 em nenhuma delas (NEVES et al. 2002). Parece que na população do Rio de Janeiro há uma incidência baixa de infecção pelo HPV 31, se comparada com outros estados. Investigação realizada em Niterói com 25 amostras de esfregaços cervicais positivas para HPV não encontrou nenhuma amostra positiva para o HPV 31 (CARESTIATO 2005).

A infecção múltipla esteve presente em três casos de condiloma acuminado. Por serem lesões benignas, não foi verificada relação da infecção múltipla com a gravidade da lesão. Também não se encontrou correlação daquela com a contagem de CD4 e a carga viral. O encontro de infecção múltipla tem repercussão social importante, sugerindo que diversos tipos de HPV estão sendo transmitidos entre a população sexualmente ativa. Não devemos ainda esquecer que a presença de uma doença sexualmente transmissível (DST) poderia facilitar a aquisição de outras DSTs, incluindo o HIV.

O encontro de HPV de alto risco, como o 16, que aconteceu em quatro lesões benignas, deve sempre orientar para a realização de um acompanhamento mais regular do paciente para detecção precoce de transformação maligna.

A presença de HPV 6 na papulose bowenóide, três casos na presente casuística, não é freqüente, com poucos casos descritos na literatura (PARK et al. 1998, ROLIGHED et al. 1991). A associação mais comum é com HPV 16 e há casos descritos com os tipos 18, 31-34, 39, 42, 48, 51-54 (NUNES et al. 2004). Vale lembrar que a classificação de HPV de baixo risco não impede que ele esteja envolvido na transformação maligna (LOWY et al. 2001).

Não houve detecção de HPV em seis lesões pré-malignas ou malignas, o que já foi observado em outros estudos (GRUSSENDORF-CONEN 1997, NEVES et al. 2002, FRANÇA 2005). Para que ocorra a transformação maligna, o DNA do HPV se integra

ao DNA celular, causando então a instabilidade genômica. Durante a integração pode haver rompimento de uma seqüência do gene L1, reduzindo a sensibilidade do primer MY09/11 (GRUSSENDORF-CONEN 1997). Estudo realizado no mesmo Hospital (HUCFF), em 34 casos de carcinoma epidermóide do pênis, não foi capaz de demonstrar HPV em nenhuma amostra (FRANÇA 2005).

Em casos de verruga vulgar na mucosa oral, os tipos de HPV comumente encontrados são 2, 4, 6, 11 e 57. O achado de HPV 16 nesses casos é raro, e ocorreu em uma lesão localizada no lábio superior. Tal fato poderia ser justificado pela aquisição através do contato sexual oro-genital.

O caso de verruga plana onde foi detectado HPV 6 apresentava lesão de papulose bowenóide no pênis, onde também foi detectado o mesmo tipo de HPV. Dessa forma, o encontro de um tipo genital na lesão cutânea poderia ser justificado por autocontaminação. Há na literatura diversos relatos de detecção de tipos genitais de HPV em lesões cutâneas, em especial em pacientes imunodeprimidos (SOLER et al. 1993, CAVALCANTI et al. 1998). Porro et al., em 2003, tipificaram HPV em 39 verrugas cutâneas e encontraram HPV 6 em duas lesões de pacientes HIV-positivos e em uma lesão de paciente HIV-negativo; e no restante, tipos comuns de verruga vulgar, como 2, 57 e 27 (PORRO et al. 2003).

Nas lesões clínicas semelhantes à EV em pacientes soropositivos para HIV, têm-se encontrado os tipos 3, 5, 8, 10 e 20, todos sendo tipos relacionados à EV (PROSE et al. 1990, BARZEGAR et al. 1998). Na maioria dos casos de EV do presente estudo, não houve detecção de HPV, o que era esperado, uma vez que não foram utilizados oligonucleotídeos específicos para os tipos relacionados à EV e que se utilizou oligonucleotídeo genérico com baixa sensibilidade para lesões cutâneas.

As publicações relacionando carga viral e HPV são conflitantes. King et al., em 2002, avaliaram o surgimento de verrugas orais em pacientes em uso de HAART e indicaram que redução na carga viral seria um risco para o surgimento das lesões induzidas pelo HPV. Isto poderia representar uma forma de síndrome de reconstituição imunológica, ocorrendo como resposta a uma melhora na função da imunidade celular (KING et al. 2002). Outros estudos indicam ser a carga viral um fator de risco para o desenvolvimento de neoplasia intraepitelial, em especial se maior que 50.000 cópias/ml (CUBIE et al. 2000, HOLLY et al. 2001). Na presente investigação, não houve diferença entre as cargas virais do grupo com lesão benigna e do grupo com lesão pré-maligna ou maligna.

Até o momento, HAART não parece estar implicada na melhora da história natural das doenças associadas ao HPV (DE SANJOSÉ et al. 2002). A maioria dos estudos não demonstrou seu impacto na regressão das lesões pré-neoplásicas, sendo a melhora do sistema imune insuficiente para prover proteção contra o HPV (HEARD et al. 1998, PALEFSKY et al. 2001). Foi sugerido ainda que a persistência do HPV e o aumento da sobrevida dos pacientes agiriam em conjunto, facilitando a progressão para a neoplasia (LILLO et al. 2001, PALEFSKY et al. 2001). Outro fator importante no início da TARV, já mencionado anteriormente, é a síndrome de reconstituição imunológica, que pode causar a piora clínica de lesões infecciosas, contribuindo para a progressão da doença. No presente estudo, o uso de TARV aponta para um aumento da prevalência de lesão pré-maligna ou maligna, sugerindo que o aumento da sobrevida forneceria o tempo necessário para a transformação maligna.

Sobre a contagem de células T CD4, Piketty et al., em 1998, avaliaram a associação entre infecção anal por HPV e neoplasia intraepitelial anal em pacientes HIV-positivos, e demonstraram que contagem de CD4 menor que 250 células/mm³ e Sida

são fatores de risco para a infecção pelos tipos 16 e 18 (PIKETTY et al. 2003). Palefsky et al., em 1999, estudaram a infecção cervical por HPV em 1778 mulheres HIV-positivas e em 500 mulheres HIV-negativas, demonstrando que infecção por HPV de alto risco foi três vezes mais comum em mulheres com contagem de CD4 menor que 200, comparadas com mulheres com CD4 maior que 500 células/mm³. No presente estudo, aproximadamente metade dos pacientes apresentava contagem de CD4 menor que 200 células/mm³. Tanto no grupo com contagem de CD4 menor ou igual a 200 células/mm³, quanto no grupo com contagem de CD4 maior que 200 células/mm³, foi detectado HPV 16 em três pacientes, não havendo diferença entre os dois grupos. Em dois outros estudos, baixo nível de CD4 também foi fator de risco para o desenvolvimento de câncer anal (HOLLY et al. 2001, PALEFSKY et al. 1998). Na presente investigação, a contagem de CD4 menor ou igual a 200 células/mm³ parece se relacionar com um aumento da prevalência de lesão pré-maligna ou maligna, sugerindo, assim como na literatura, que a diminuição da imunidade aumentaria a prevalência de malignidade.

7 CONCLUSÕES

1. A pesquisa do HPV, positiva em 63,2% dos pacientes, demonstrou baixa taxa de detecção de HPV de alto risco (HPV 16, 18,4%) e nenhum HPV 18.
2. 36,8% das lesões já eram pré-malignas ou malignas e a frequência de displasia moderada ou grave nos pacientes estudados foi maior do que a descrita na população soronegativa para HIV.
3. HPV de alto risco (HPV 16) foi detectado em quatro lesões benignas e HPV de baixo risco (HPV 6) em três lesões genitais pré-malignas.
4. A idade do paciente, data do primeiro exame anti-HIV positivo, tempo de evolução das lesões, carga viral, uso de terapia anti-retroviral, alto grau de imunodepressão ($CD4 < \text{ou} = 200 \text{ células/mm}^3$) e presença de HPV na lesão não mostraram associação significativa com o aumento de prevalência de lesão pré-malignas ou malignas.

SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

1. Estudo semelhante abrangendo pacientes de outro ambulatório para aumentar o número da amostra.
2. Estudo em parceria com a ginecologia abrangendo a população feminina deste ambulatório ou somente as parceiras dos pacientes avaliados.
3. Realização de citologia e detecção e tipificação de HPV em esfregaço da mucosa anal dos pacientes masculinos e femininos do ambulatório, o que serviria de rastreamento para encaminhamento para avaliação pelo proctologista.
4. Realização de citologia de esfregaço da mucosa oral para descrever os tipos de HPVs presentes na mucosa destes pacientes, com ou sem lesão, comparando com os da população HIV-negativa.
5. Estudo mais aprofundado dos casos de epidermodisplasia verruciforme nesse grupo populacional, com a realização de PCR utilizando oligonucleotídeos iniciadores específicos para EV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARENGA GC, SÁ EMM, PASSOS MRL, PINHEIRO VMS. Human Papillomavirus and Carcinogenesis in the Uterus Cervix. *DST – J Bras Doenças Sex Transm* 2000;12(1):28-38.
- AYNAUD O. Comparison of clinical, histological and virological symptoms of HPV in HIV-1 infected men and immunocompetent subjects. *Sex Transm Infect* 1998;74(1):32-4.
- AZEVEDO LMS, HARRIS OMO. Carcinoma espinocelular *in situ*. In: Neves Rg, Lupi O, Talhari S. *Cancer da pele*. 1ª Ed MEDSI, 2001;147-69.
- BARZEGAR C, PAUL C, SAIAG P, CASSENOT P, BACHELEZ H, AUTRAN B, et al. Epidermodysplasia verruciformis-like eruption complicating human immunodeficiency virus infection. *Br J Dermatol* 1998;139(1):122-7.
- BAVINCK JNB, BERKHOUT RJM. HPV infections and immunosuppression. *Clinics in Dermatology* 1997;15:427-37.
- BERKHOUT RJM, TIEBEN LM, SMITS HL, BAVINCK JMB, VERMEER BJ, TER SCHEGGET J. Nested PCR approach for detection and typing of epidermodysplasia verruciformis-associated human papillomavirus types in cutaneous cancers from renal transplant recipients. *J Clin Microbiol* 1995;33(3):690-5.
- BRABIN L. Interactions of the female hormonal environment, susceptibility to viral infections, and disease progression. *AIDS Patient Care STDS* 2002;16(5):211-21.

BRENNAN SM, SYRJANEN KJ. Regulation of cell cycles is of key importance in human papillomavirus (HPV)-associated cervical carcinogenesis. *São Paulo Med J* 2003;121(3):128-32. Epub 2003 08.

BRENTJENS MH, YEUNG-YUE KA, LEE PC, TRYING SK. Human papillomavirus: a review. *Dermatol Clin* 2002;20:315-31.

BRITO AM, CASTILHO EA, SZWARCOWALD CL. AIDS e infecção pelo HIV no Brasil: uma epidemia multifacetada. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2000;34(2):207-17.

BRYAN JT, STOLER MH, TYRING SK, McCLOWRY T, FIFE KH, BROWN DR. High-grade dysplasia in genital warts from two patients infected with the human immunodeficiency virus. *J Med Virol* 1998;54(1):69-73.

CARESTIATO FN. Análise comparativa de técnicas de biologia molecular para o diagnóstico de infecções causadas por papilomavírus humanos no colo de útero. Tese de mestrado. Niterói, Curso de Pós-graduação em Patologia Experimental, UFF, 2005.

CARRÉ D, DOMPMARTIN A, VERNEUIL L, VERDON R, COMOZ F, Le BRUN E, et al. Epidermodysplasia verruciformis in a patient with HIV infection: no response to highly active antiretroviral therapy. *Int J Dermatol* 2003;42(4):296-300.

CAVALCANTI SMB, DEUS FCC, OLIVEIRA LHS. Unusual HPV types in cutaneous warts in association with immunological deficiency. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1998;93(4):433-4.

CHANG F, SYRJANEN S, KELLOKOSKI J, SYRJANEN K. Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease. *J Oral Pathol Med* 1991;20(7):305-17.

CIUFFO G. Innesto positivo com infiltrato di verrucae volgare. Giorn Ital Mal Venereol 1907;48:12-17.

COHN A. Aspectos sociais, culturais e econômicos: considerações acerca da dimensão social da epidemia de HIV/AIDS no Brasil. 2001. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/udtv/doc05.htm>> Acesso em: 09 de agosto de 2005, 10:15:25.

COHN A. Os jovens na mídia - o desafio da aids. Brasília, junho de 2000. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/jovensnamidia/menu/01.htm>> Acesso em: 10 de agosto de 2005, 18:25:00.

CUBIE HA, SEAGAR AL, BEATTIE GJ, MONAGHAN S, WILLIAMS AR. A longitudinal study of HPV detection and cervical pathology in HIV infected women. Sex Transm Inf 2000;76:257-67.

DE SANJOSÉ S, PALEFSKY J. Cervical and anal HPV infections in HIV positive women and men. Virus Research 2002;89:201-211.

EGAWA K. New types of human papillomavirus and intracytoplasmic inclusion bodies: a classification of inclusion warts according to clinical features, histology and associated HPV types. Br J Dermatol 1994;130:158-66.

ELDER D, ELENITSAS R, IOFFREDA M, JOHNSON B, MILLER JM, MILLER III OF. Proliferações Superficiais Localizadas Epidérmicas ou Melanocíticas em Histopatologia da Pele de Lever – Manual e Atlas. 1ª Ed, Ed. Manole, 2001:15-61.

ELLERBROCK TV, CHIASSON MA, BUSH TJ, SUN XW, SAWO D, BRUDNEY K, et al. Incidence of cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women. J Am Med Assoc 2000;283(8):1031-7.

EUVRARD S, CHARDONNET Y, POUTEIL-NOBLE C, KANITAKIS J, CHIGNOL MC, THIVOLET J, et al. Association of skin malignancies with various and multiple

carcinogenic and noncarcinogenic human papillomaviruses in renal transplant recipients. *Cancer* 1993;72:2198-206.

EUVRARD S, KANITAKIS J, POUTEIL-NOBLE C, DUREAU G, TOURAINE JL, FAURE M, et al. Comparative epidemiologic study of premalignant and malignant epithelial cutaneous lesions developing after kidney and heart transplantation. *J Am Acad Dermatol* 1995;33:222-9.

FERENCZY A, BRAUN L, SHAH KV. Human papillomavirus (HPV) in condylomatous lesions of the cervix. A comparative ultrastructural and immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol* 1981;5:661-70.

FONSECA MGP, BARREIRA D. A evolução da mortalidade por Aids no país, segundo sua distribuição geográfica. *Bol Epidemiol Aids* 2000;13:3-13.

FONSECA MGP, SZWARCWALD CL, BASTOS FI. Análise sociodemográfica da epidemia de AIDS no Brasil, 1989-1997. *Rev Saúde Pública* 2002;36(6):678-85.

FRANÇA FB. Carcinoma epidermóide do pênis: estudo de 34 casos no HUCFF/UFRJ. Tese de mestrado. Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

GARLICK JA, TAICHMAN LB. Human Papillomavirus Infection of the Oral Mucosa. *Am J Dermatol* 1991;13(4):386-95.

GODOFREY JC, VAUGHAN MC, WILLIAMS JV. Successful treatment of bowenoid papulosis in a 9-year-old girl with vertically acquired human immunodeficiency virus. *Pediatrics* 2003;112(1):73-6.

GOMOUSA-MICHEL M, GIALAMA E, GOMOUSAS N, GIALAMA G. Genital human papillomavirus infection and associated penile intraepithelial neoplasia in males infected with human immunodeficiency virus. *Acta Cytol* 2000;44(3):305-9.

GRIMMEL M, DE VILLIERS EM, NEUMANN C, PAWLITA M, ZUR HAUSEN H.

Characterization of new human papillomavirus (HPV 41) from disseminated warts and detection of its DNA in some skin carcinomas. *Int J Cancer* 1988;41:5-9.

GRUSSENDORF-CONEN E-I, JACOBS S. Efficacy of imiquimod 5% cream in the treatment of recalcitrant warts in children. *Pediatric Dermatology* 2002;19(3):263-6.

GRUSSENDORF-CONEN E-I. Anogenital premalignant and malignant tumors (including Buschke-Löwenstein tumors). *Clinics in Dermatology* 1997;15:377-88.

GUNTER J. Genital and perianal warts: new treatment opportunities for human papillomavirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189(3 Suppl):S3-11.

HALL S, LORINCZ A, SHAH F, SHERMAN ME, ABBAS F, PAULL G, et al.

Human papillomavirus DNA detection in cervical specimens by hybrid capture: correlation with cytologic and histologic diagnoses of squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Gynecol Oncol* 1996;62(3):353-9.

HANDSFIELD HH. Clinical presentation and natural course of anogenital warts.

Am J Med 1997;102(5A):16-20.

HARWOOD CA, MCGREGOR JM, PROBY CM, BREUER J. Human

papillomavirus and the development of non-melanoma skin cancer. *J Clin Pathol* 1999;52(4):249-53.

HEARD I, SCHMITZ V, COSTAGLIOLA D, ORTH G, KAZATCHKINE MD. Early regression of cervical lesions in HIV-seropositive women receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 1998;12:1459-64.

HEDGE RS. The papillomavirus E2 proteins: structure, function and biology.

Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure 2002;31:343-60.

HERMANKOVA M, SILICIANO JD, ZHOU Y, MONIE D, CHADWICK K, MARGOLICK JB, et al. Analysis of human Immunodeficiency virus type 1 gene expression in latently infected resting CD4 + T lymphocytes in vivo. *Journal of Virology* 2003;77(13):7383-7392.

HOLLY EA, RALSTON ML, DARRAGH TM, GREENBLATT RM, JAY N, PALESKY JM. Prevalence and risk factors for anal squamous intraepithelial lesions in women. *J Natl Cancer Inst* 2001;93(11):843-9.

HONDA A, IWASAKI T, SATA T, KAWASHIMA M, MORISHIMA T, MATSUKURA T. Human papillomavirus type 60-associated plantar wart. Ridged wart. *Arch Dermatol* 1994;130(11):1413-7.

HOWLEY PM, LOWY DR. Chapter 65: Papillomavirus and Their Replication. In *Fields Virology Section two: Specific Virus Families*. 4th Ed. Lippincott Williams et Wilkins CD Room 2001.

JABLONSKA S, MAJEWSKI S, OBALEK S, ORTH G. Cutaneous Warts. *Clinics in Dermatology* 1997;15:309-19.

JOSHI S, JOSHI RL. Molecular Biology of the Human Immunodeficiency Virus Type-1. *Transfus Sci* 1996;17(3):351-78.

KANG MK, PARK NH. Conversion of normal to malignant phenotype: telomere shortening, telomerase activation, and genomic instability during immortalization of human oral keratinocytes. *Crit Rev Oral Biol Med* 2001;12(1):38-54.

KAWASHIMA M, FAVRE M, OBALEK S, JABLONSKA S, ORTH G. Premalignant lesions and cancers of the skin in the general population: evaluation of the role of human papillomaviruses. *J Invest Dermatol* 1990;95:537-42.

KETTLER AH, RUTLEDGE M, TSCHEN JA, BUFFONE G. Detection of human papillomavirus in nongenital Bowen's disease by in situ hybridization. Arch Dermatol 1990;126:777-81.

KING MD, REZNIK DA, O`DANIELS CM, LARSEN NM, OSTERHOLT D, BLUMBERG HM. Human papillomavirus associated oral warts among human immunodeficiency virus seropositive patients in the era of highly active antiretroviral therapy: an emerging infection. Clin Infect Dis 2002;34(5):642-8.

KIVIAT NB, CRITCHLOW CW, HOLMES KK, KUYPERS J, SAYER J, DUNPHY C, et al. Association of anal dysplasia and human papillomavirus with immunosuppression and HIV infection among homosexual men. AIDS 1993;7(1):43-9.

KOUTSKY L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. Am J Med 1997;102(5A):3-8.

LILLO F, FERRARI D, VEGLIA F, ORIGONI M, GRASSO MA, LODINI S, 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(5):547-51.

LOPES F. Por quê trabalhar com o quesito cor? 1999. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/final/dh/afroatitude/cotas/cor.doc>> Acesso em: 13 de agosto de 2005, 14:34:45.

LOWY DR, HOWLEY PM. Chapter 66: Papillomavirus. In Fields Virology Section two: Specific Virus Families. 4th Ed. Lippincott Williams et Wilkins CD Room 2001.

LU S, SYRJÄNEN K, HAVU VK. No evidence of human papillomavirus DNA in actinic keratosis. Arch Dermatol Res 1995;287:649-51.

MANGANARO AM. Oral condyloma acuminatum. Gen Dent 2000;48(1):62-4;quiz 65-6.

MANOS MM, TING Y, WRIGHT DK, et al. The use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomavirus. Cancer Cells 1989;7:209-14.

MANUAL DE DST <www.aids.gov.br/assistencia/manualdst/item12.html> Acesso em: 29 de julho de 2004, 20:00:16.

MARTIN F, BOWER M. Anal intraepithelial neoplasia in HIV positive people. Sex Transm Infect 2001;77(5):327-31.

MCKAIG RG, BARIC RS, OLSHAN AF. Human papillomavirus and head and neck cancer: epidemiology and molecular biology. Head Neck 1998;20(3):250-65.

MELBYE M, COTE TR, KESSLER L, GAIL M, BIGGAR RJ. High incidence of anal cancer among AIDS patients. Lancet 1994;343(8898):636-9.

MICALI G, INNOCENZI D, NASCA MR, MUSUMECI ML, FERRAU F, GRECO M. Squamous cell carcinoma of the penis. J Am Acad Dermatol 1996;35:432-51.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Contagem de Células T CD4+ e Testes de Carga Viral: Principais Marcadores Laboratoriais para Indicação e Monitorização do Tratamento Anti-Retroviral. Unidade de Assistência e Unidade de Laboratório da Coordenação Nacional de DST/Aids. <<http://www.aids.gov.br>> Acesso em: 25 de agosto de 2004, 18:47:05.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Plano Estratégico Programa Nacional de DST/AIDS 2005. Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST/AIDS.

Brasília, DF, Assessoria de Planejamento – ASPLAN, 15 de março de 2005.

Disponível em:

<http://www.aids.gov.br/final/biblioteca/plano/plano_estrategico.doc>. Acesso em:

13 de agosto de 2005, 16:30:30.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. SPS. CN-DST/AIDS. DATASUS/CENEPI/SIM. AIDS: Boletim Epidemiológico, Ano XII, nº 1, dezembro de 1998 a fevereiro de 1999.

Disponível em : <<http://www.aids.gov.br/final/biblioteca/avalia2/2.htm>>. Acesso em: 09 de agosto de 2005, 22:55:15.

NEVES D, CAMARA GNL, ALENCAR TR, DA CRUZ MR, MARTINS CRF, CARVALHO LGS. Prevalence of human papillomavirus in penile carcinoma. Brazilian Journal of Urology 2002;28(3):221-6.

NUNES MG, TROPE BM, CAVALCANTI SMB, OLIVEIRA LHS, RAMOS-e-SILVA M. Bowenoid papulosis in a patient with AIDS treated with imiquimod: case report. Acta Dermatovenerol Croat 2004;12(4):278-81.

PADAYACHEE A. Human papillomavirus (HPV) types 2 and 57 in oral verrucae demonstrated by *in situ* hybridization. J Oral Pathol Med 1994;23:413-7.

PALEFSKY JM, HOLLY E A, RALSTON ML, JAY N. Prevalence and risk factors for human papillomavirus infection of the anal canal in HIV-positive and HIV-negative homosexual men. J Infect Dis 1998aa; 177:361-367.

PALEFSKY JM, HOLLY EA, RALSTON ML, ARTHUR SP, JAY N, BERRY JM, et al. Anal squamous intraepithelial lesions among HIV-positive and HIV-negative homosexual and bisexual men: prevalence and risk factors. J Acquired Immune Defic Syndr 1998;17(4):320-6.

PALEFSKY JM, HOLLY EA, RALSTON ML, DA COSTA M, BONNER H, JAY N, et al. Effect of highly active antiretroviral therapy on the natural history of anal squamous intraepithelial lesions and anal human papillomavirus infection. JAIDS 2001;28(5):422-8.

PALEFSKY JM, MINKOFF H, KALISH LA, GARCÍA P, YOUNG M, MELNICK S, et al. Cervicovaginal human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-1 (HIV)-positive and high-risk HIV-negative women. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(3):226-36.

PALEFSKY JM. Anal squamous intraepithelial lesions in human immunodeficiency virus-positive men and women. *Semin Oncol* 2000;27(4):471-9.

PALESKY JM. Prevalence and risk factors for anal squamous intraepithelial lesions in women. *J Natl Cancer Inst* 2001;93(11):843-9.

PANTALEO G, GRAZIOSI C, FAUCI AS. The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *New England Journal of Medicine* 1993 feb;328(5):327-35.

PARK KC, KIM KH, YOUN SW, HWANG JH, PARK KH, AHN JS et al. Heterogeneity of human papillomavirus DNA in a patient with Bowenoid papulosis that progressed to squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol* 1998;139(6):1087-91.

PFISTER H, HANEKE E. Demonstration of human papillomavirus type 2 DNA in Bowen's disease. *Arch Dermatol Res* 1984;276:123-5.

PFISTER H., SCHEGGET J.T. Role of HPV in cutaneous premalignant and malignant tumors. *Clinics in Dermatology* 1997;15:335-47.

PIKETTY C, DARRAGH TM, DA COSTA M, BRUNEVAL P, HEARD I, KAZATCHKINE MD, et al. High prevalence of anal human papillomavirus infection and anal cancer precursors among HIV-infected persons in the absence of anal intercourse. *Ann Intern Med* 2003;138(6):453-9.

PINTO AP, TULIO S, CRUZ OR. Hpv cofactors in cervical carcinogenesis. *Rev Assoc Med Bras* 2002;48(1):73-8.

PORRO AM, ALCHORNE MMA, MOTA GR, MICHALANY N, PIGNATARI ACC, SOUZA IE. Detection and typing of human papillomavirus in cutaneous warts of patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *British Journal of Dermatology* 2003;149:1192-9.

PRAETORIUS F. HPV-Associated Diseases of Oral Mucosa. *Clinics in Dermatology* 1997;15:399-413.

PROSE NS, VON KNEBEL-DOEBERITZ C, MILLER S, MILBUM PB, HEILMAN E. Widespread flat warts associated with human papillomavirus type 5: a cutaneous manifestation of human immunodeficiency virus infection. *J Am Acad Dermatol* 1990;23:978-81.

QUINN TC. Global burden of the HIV pandemic. *Lancet* 1996;348:99-106.

RODRIGUEZ-JÚNIOR AL, CASTILHO EA. A epidemia de AIDS no Brasil, 1992-2000: descrição espaço-temporal. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2004;37(4):312-7.

ROLIGHED J, SORENSEN IM, JACOBSEN NO, LINDEBERG H. The presence of HPV types 6/11, 13, 16 and 33 in bowenoid papulosis in an HIV-positive male, demonstrated by DNA *in situ* hybridization. *APMIS* 1991;99:583-5.

RUDLINGER R, BUCHMANN P. HPV 16-positive bowenoid papulosis and squamous-cell carcinoma of the anus in an HIV-positive man. *Dis Colon Rectum* 1989;32:1042-5.

RÜDLINGER R, GROB R, YU YX, SCHNYDER UW. Human papillomavirus-35-positive bowenoid papulosis of the anogenital area and concurrent human papillomavirus-35-positive verruca with bowenoid dysplasia of the periungueal area. *Arch Dermatol* 1989;125:655-9.

SCHAFER A, FRIEDMANN W, MIELKE M, SCHWARTLANDER B, KOCH MA. The increased frequency of cervical dysplasia-neoplasia in women infected with human immunodeficiency virus is related to the degree of immunosuppression. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164(2):593-9.

SCHECTER WP. Human Immunodeficiency Virus and malignancy. *Arch Surg* 2001;136:1419-25.

SCHEURLEN W, GISSMAN L, GROSS G, et al. Molecular cloning of two new HPV types (HPV 37 and HPV 38) from a keratoacanthoma and a malignant melanoma. *Int J Cancer* 1986;288:129-32.

SEVERSON JL. Viral Disease Update. *Current Problems in Dermatology*. St. Louis 1999;11(2):37-72.

SEVERSON J, EVANS TY, LEE P, CHAN T, ARANY I, TYRING SK. Human papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis, and therapy. *J Cutan Med Surg*. 2001;5(1):43-60.

SHAMANIN V, ZUR HAUSEN H, LAVERGNE D, PROBY CM, LEIGH IM, NEUMANN C, et al. Human papillomavirus infections in nonmelanoma skin cancers from renal transplant recipients and nonimmunosuppressed patients. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:802-11.

SHOPE RE. Infectious papillomatosis of rabbits (with a note on the histopathology by EW Hurst). *J Exp Med* 1933;58:607-624.

SOLER C, CHARDONNET Y, ALLIBERT P, EUVRARD S, SCHMITT D, MANDRAND B. Detection of mucosal human papillomavirus types 6/11 in cutaneous lesions from transplant recipients. *J Invest Dermatol* 1993;101:286-91.

STARK LA, ARENDS MJ, McLAREN KM, BENTON EC, SHAHIDULLAH H, HUNTER JA, et al. Prevalence of human papillomavirus DNA in cutaneous

neoplasms from renal allograft recipients supports a possible viral role in tumor promotion. *Br J Cancer* 1994;69:222-9.

STETSON CL, RAPINI RP, TYRING SK, KIMBROUGH RC. CD4+ T lymphocytopenia with disseminated HPV. *J Cutan Pathol* 2002;29(8):502-5.

SURENTERAN T, HARWOOD CA, SPINK PJ, SINCLAIR AL, LEIGH IM, PROBY CM, et al. Detection and typing of human papillomaviruses in mucosal and cutaneous biopsies from immunosuppressed and immunocompetent patients and patients with epidermodysplasia verruciformis: a unified diagnostic approach. *J Clin Pathol* 1998;51:606-10.

TAKEBE Y, KUSAGAWA S, MOTOMURA K. Molecular Epidemiology of HIV: Tracking AIDS pandemic. *Pediatrics International* 2004;46:236-44.

TAVARES RR, PASSOS MRL, CAVALCANTI SMB, PINHEIRO VMS, RUBINSTEIN I. Condilomatose genital em homens e soropositividade para HIV. DST – *J Bras Doenças Sex Transm* 2000;12(1):4-27.

THOMAS KK, HUGHES JP, KUYPERS JM, KIVIAT NB, LEE SK, ADAM DE, et al. Concurrent and sequential acquisition of different genital human papillomavirus types. *J Infect Dis* 2000;182:1097-102.

TRAUNER MA, RUBEN BS, HATCHER SL, LAWRY MA. Groin Eruption in an HIV-Positive Man. *Arch Dermatol* 2002;138(4):527-32.

TROFATTER KT. Diagnosis of human papillomavirus genital tract infection. *The Am J Med* 1997;102(5A):21-7.

UNAIDS/WHO. AIDS epidemic update: December 2004, World Health Organization, 2004.

<http://www.unaids.org/wad2004/EPI_1204_pdf_en/EpiUpdate04_em.pdf>

Acesso em: 24 de janeiro de 2005, 21:17:32.

VERMUND SH, KELLEY KF, KLEIN RS, FEINGOLD AR, SCHREIBER K, MUNK G, et al. High risk of human papillomavirus infection and cervical squamous intra-epithelial lesions among women with symptomatic human immunodeficiency virus infection. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165(2):392-400.

VILLA LL, BERNARD H-U, KAST M, HILDESHEIM A, AMESTOY G, FRANCO EL. Past, present, and future of HPV research: highlights from the 19th International Papillomavirus Conference-HPV2001. *Virus Research* 2002;89:163-173.

VILLA LL, COSTA RL, PETTA CA, ANDRADE RP, AULT KA, GIULIANO AR, et al. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16 and 18) L1 virus-like particle vaccine in young human: a randomized double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol* 2005;6(5):271-8.

VON KROGH G, GROSS G. Anogenital warts. *Clinics in Dermatology* 1997;15:355-68.

WALBOOMERS JM, JACOBS MV, MANOS MM, BOSCH FX, KUMMER J A, SHAH KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189:12.

WANG C-Y, BRODLAND DG, DANIEL SU WP. Skin cancers associated with acquired immunodeficiency syndrome. *Mayo Clin Proc* 1995;70:766-72.

WARD KA, WINTER PC, WALSH M, MAW RD, DINSMORE WW. Detection of human papillomavirus by the polimerase chain reaction in histologically normal penile skin adjacent to penile warts. *Sexually Transmitted Diseases*. 1994; 21(2):83-88.

WEEDON D, STRUTTON G. Viral Disease. In *Skin Pathology*. 2nd Ed. Ed Churchill Livingston. Edinburgh, 2002, 691-717.

WIKSTRÖM A. Clinical and Serological Manifestations of Genital Human Papillomavirus Infection. *Acta Dermato-Venereologica* 1995;Supplementum 193, 1-85.

YAMAGUCHI T, SHINDOH M, AMEMIYA A, INOUE N, KAWAMURA M, SAKAOKA H, et al. Detection of human papillomavirus type2 related sequence in oral papilloma. *Analytical Cellular Pathology* 1998;16:125-30.

ZUR HAUSEN H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2000 3;92(9):690-8.

ANEXO 1

Processo CEP/HUCHH/UFRJ nº 006-03

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, portador da carteira de identidade nº _____, residente à _____ no bairro de _____, município _____, concordo em participar do estudo de pesquisa científica sobre tipificação de HPV em lesões de mucosa e de pele de pacientes homens soropositivos para HIV. Este estudo será conduzido pela Dra. Mariana de Gusmão Nunes, telefone 2280-7211, mestranda do serviço de dermatologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), sob responsabilidade da Profa. Dra. Márcia Ramos-e-Silva e da Profa. Ledy do H. dos S. Oliveira. O objetivo do estudo consiste em avaliar o tipo do HPV presente nas lesões selecionadas. Tendo compreendido o acima descrito, estou ciente de que:

- a infecção por HPV é doença ainda sem cura definitiva e o tratamento local visa eliminar as lesões existentes;
- a pesquisa é importante para avaliar se o vírus presente na minha lesão é de baixo ou alto risco, indicando o prognóstico da doença;
- entendo que terei de me submeter à biópsia da lesão, que é um procedimento pouco invasivo, porém doloroso e com pequeno risco de sangramento ou infecção;
- compreendo que a biópsia da lesão não traz risco de vida para mim;
- permitirei que façam um questionário curto sobre minha saúde, um exame físico e que tirem fotografias das minhas lesões;
- apesar de estudos terem demonstrado a segurança da biópsia, caso haja alguma complicação decorrente da mesma ou da minha própria doença, terei garantia de acompanhamento ambulatorial no HUCFF;
- tenho plena liberdade para recusar a participação no estudo ou para retirar meu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem que haja qualquer penalização ou prejuízo ao meu cuidado;
- serei informado sobre a evolução dos procedimentos e poderei desistir em qualquer fase da pesquisa, sem nenhuma penalidade;
- o projeto foi-me lido e explicado pela Dra. Mariana, encontra-se a minha disposição na íntegra com a mesma para lê-lo a qualquer momento;
- em caso de dúvidas, poderei procurar a Dra. Mariana na Secretaria de Dermatologia, localizada no 5º andar do HUCFF (tel 2562-2580), ou no ambulatório de Dermatologia no Hospital Dia às quintas-feiras de manhã;
- receberei uma cópia deste termo de consentimento;
- será preservado o sigilo sobre a minha identidade.

Rio de Janeiro, _____ de _____ de 2004.

Assinatura do paciente ou responsável

Assinatura do médico

ANEXO 2

No. _____ Prontuário: _____ Data: _____

QUESTIONÁRIO CLÍNICO

Nome: _____

Telefone para contato: _____

Idade: _____ Data de nascimento: ____/____/____

Cor: _____ 1- Branca 2- Negra 3- Parda 4- Amarela 5- Albina

Estado civil: _____ 1- Solteiro 2- Casado 3- Separado 4- Viúvo
5- Solteiro com companheira(o) 6- Não sabeEscolaridade: _____ 1- Analfabeto 2- 1º grau incompleto 3- 1º grau completo
4- 2º grau incompleto 5- 2º grau completo 6- Superior incompleto 7- Superior completo
8- Não sabe

Profissão: _____

Renda familiar: _____ 1- Até 2 salários 2- 3 a 5 salários 3- 6 a 10 salários
4- Acima de 10 salários 5- Não respondeu 6- Desempregado

Naturalidade: _____

Data do primeiro exame anti-HIV positivo: mês: _____ ano: _____

Uso de anti-retroviral: _____ 1- Sim 2- Não

Data de início do tratamento anti-retroviral: mês: _____ ano: _____

Medicamentos anti-retrovirais usados: _____

CD4: _____ Carga Viral: _____ Data: _____

Doenças associadas e HPP: _____

História clínica: _____

Exame físico: _____

Biópsia: _____

Detecção do vírus: _____ 1- Sim 2- Não

Tipagem viral: _____

Conclusão: _____

Observações: _____

Médico: _____

Assinatura e carimbo: _____

ANEXO 3

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)