

ROBERTO JOSÉ CARVALHO DA SILVA

**Prevalência da infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV)
em homens soropositivos para HIV e homens parceiros de
mulheres com infecção pelo HPV**

Dissertação de mestrado apresentada à
Faculdade de Medicina da Universidade de
São Paulo para a obtenção do
título de Mestre em Ciências
Área de concentração: Dermatologia
Orientador: Jorge Simão do Rosário Casseb

São Paulo

2006

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Silva, Roberto José Carvalho da

Prevalência da infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) em homens soropositivos para HIV e homens parceiros de mulheres com infecção pelo HPV / Roberto José Carvalho da Silva. -- São Paulo, 2006.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Dermatologia.

Área de concentração: Dermatologia.

Orientador: Jorge Simão do Rosário Casseb.

Descritores: 1.PAPILLOMAVÍRUS HUMANO 2.HIV 3.SÍNDROME DE IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA 4.VÍRUS ONCOGÊNICOS 5.CONDILOMA ACUMINADO 6.REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE 7.LINFÓCITOS T CD4-POSITIVOS 8.CARGA VIRAL

USP/FM/SBD-029/06

Dedico esta dissertação aos meus pais, Pedro e Maria do Socorro,
A meu inesquecível irmão, Wellington (*in memoriam*) e a minha querida irmã,
Mônica.

Agradecimentos

Este trabalho foi resultado de muito esforço, dedicação e colaboração de muitos colegas e amigos.

Ao Professor Dr. Alberto Duarte, professor associado do departamento de Dermatologia pelo LIM 56, por ter me acolhido no início e acreditado em minha proposta do estudo.

Ao Doutor Jorge Casseb, meu amigo e orientador, pela sua disponibilidade e dedicação com que conduziu este trabalho com muita amizade.

A Profa. Dra. Luisa Lina Villa, pesquisadora e chefe do grupo de Virologia do Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer - São Paulo, pelos ensinamentos, pela generosidade com que se dispusera a realizar os exames de biologia molecular, base fundamental desse estudo. Também pela mulher extraordinária que não mede esforços em ajudar. Capacidade imensa de tranqüilizar-me nos momentos difíceis. Sempre acreditando no potencial de cada um. Por quem eu tenho o privilégio e a graça de Deus de tê-la como uma verdadeira mestra. O meu eterno agradecimento.

À Dra Elisa Brito, epidemiologista e grande amiga de trabalho, que eu tenho admiração pelas nossas discussões, às vezes, calorosas com temas de HPV que muito somou a este trabalho.

À Dra Andrea Trevisam pela leitura cuidadosa desse trabalho e valiosas sugestões oferecidas. Meu muito obrigado!

A Professora Sabina, pela sua humildade e tranqüilidade em transmitir com sabedoria as explicações das tabelas e análises estatística, mesmo em

convalescença. Minha eterna gratidão e peço a Deus que lhe dê muita saúde.

Ao professor Fernão Dias de Lima pela rapidez na realização dos cálculos estatísticos que deram consistência ao trabalho.

Ao Ivaldo Olimpio da Silva professor do curso de Epi Info pela orientação fornecida no banco de dados desse trabalho.

A todos os meus colegas dos ambulatórios do núcleo de DST e da Especialidade do Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids, São Paulo pela paciência e apoio nas horas mais difíceis, e pelo incentivo permanente. A todos vocês minha gratidão!

Ao mestre Ricardo e amigo pelo apoio e ajuda na revisão dos textos em inglês.

Ao meu amigo Rogério pela dedicação em organizar a diagramação desse trabalho de uma maneira com tanto zelo.

Ao Laboratório de Investigação em Dermatologia e Imunologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - LIM 56.

Ao Daniel Tapias pela dedicação em organizar a formatação de minha aula de qualificação.

Às secretárias Olivet Venâncio e Odair Merli pelo carinho e apoio facilitando o desenvolvimento do meu trabalho.

A todos da biblioteca do CRT que com agilidade providenciaram os artigos para que esse trabalho se realizasse.

A Srta. Valéria de Vilhena Lombardi pelo cuidado da revisão na pesquisa bibliográfica.

Ao laboratório do CRT que possibilitaram o armazenamento das amostras até serem processadas no Ludwig.

À Stella, pela simplicidade, calma e apoio facilitando a comunicação com o pessoal do Ludwig.

Aos técnicos do Laboratório de Virologia do Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer-São Paulo, Antonieta, Cecília, João Pereira Sobrinho e José Carlos, pela dedicação e ajuda na realização da PCR.

Aos pacientes que concordaram em participar desse estudo, sem os quais não seria possível a sua realização.

Ao meu grande amigo e companheiro Henrique A. Nozari pelo permanente apoio, incentivo e por me transmitir calma nos momentos difíceis durante o desenvolvimento desse estudo.

As minhas sobrinhas do coração, Gabriela e Bruna, agradeço por estarem presentes na minha vida e a minha segunda família em São Paulo que sempre recebo apoio com tanto carinho, em especial, Rosinha e Marlei.

Por fim, agradeço a Deus pela saúde e pelo desejo de realizar mais um sonho em minha vida e por ter verdadeiros amigos e uma família, base de minha vida.

Navegue, descubra tesouros, mas não os tire do fundo do mar, o lugar deles é lá.
Admire a lua, sonhe com ela, mas não queira trazê-la para a terra.
Curta o sol, se deixe acariciar por ele, mas lembre-se que o seu calor é para todos.
Sonhe com as estrelas, apenas sonhe, elas só podem brilhar no céu.
Não tente deter o vento, ele precisa correr por toda parte, ele tem pressa de chegar sabe-se lá onde.
Não apare a chuva, ela quer cair e molhar muitos rostos, não pode molhar só o seu.
As lágrimas? Não as seque, elas precisam correr na minha, na sua, em todas as faces.
O sorriso! Esse você deve segurar, não o deixe ir embora, agarre-o!
Quem você ama? Guarde dentro de um porta-jóias, tranque, perca a chave!
Quem você ama é a maior jóia que você possui, a mais valiosa.
Não importa se a estação do ano muda, se o século vira e se o milênio é outro, se a idade aumenta; conserve a vontade de viver, pois não se chega à parte alguma sem ela.
Abra todas as janelas que encontrar e as portas também.
Persiga um sonho, mas não o deixe viver sozinho.
Alimente sua alma com amor, cure suas feridas com carinho.
Descubram-se todos os dias, deixe-se levar pelas vontades, mas não enlouqueça por elas. Procure, sempre procure o fim de uma história, seja ela qual for.
Dê um sorriso para quem esqueceu como se faz isso.
Acelere seus pensamentos, mas não permita que eles te consumam.
Olhe para o lado, alguém precisa de você.
Abasteça seu coração de fé, não a perca nunca.
Mergulhe de cabeça nos seus desejos e satisfaça-os.
Agonize de dor por um amigo, só saia dessa agonia se conseguir tirá-lo também.
Procure os seus caminhos, mas não magoe ninguém nessa procura.
Arrependa-se, volte atrás, peça perdão!
Não se acostume com o que não o faz feliz, revolte-se quando julgar necessário.
Alague seu coração de esperanças, mas não deixe que ele se afogue nelas.
Se achar que precisa voltar, volte!
Se perceber que precisa seguir, siga!
Se estiver tudo errado, comece novamente.
Se estiver tudo certo, continue.
Se sentir saudade, mate-a.
Se perder um amor, não se perca!
Se achá-lo, segure-o!
"Circunda-te de rosas, ama, bebe e cala. O mais é nada".

Esta dissertação está de acordo com:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Aneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2004.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| Lista de abreviações, símbolos e sigla | |
| Lista de tabelas | |
| Lista de figuras | |
| Resumo | |
| Summary | |
| 1 - Introdução..... | 1 |
| 2 - Revisão Bibliográfica | 5 |
| 2.1 - Biologia do HPV | 5 |
| 2.2 - Classificação dos tipos de HPV..... | 10 |
| 2.3 - Potencial Oncogênico..... | 11 |
| 2.4 - Replicação Viral | 12 |
| 2.5 – Co-fatores na infecção pelo HPV | 15 |
| 2.6 - Transmissão do HPV..... | 16 |
| 2.7 - Prevalência da Infecção pelo HPV em Homens..... | 17 |
| 2.8 - Formas de apresentação da infecção pelo HPV | 18 |
| 2.9 - Co-infecção HIV e HPV | 21 |
| 3 - Objetivo Geral..... | 25 |
| 3.1 - Objetivos Específicos | 25 |
| 4 - Casuística e Métodos | 26 |
| 4.1 - Tipo de estudo..... | 26 |
| 4.2 - População de estudo..... | 26 |
| 4.3 - Aspectos Éticos..... | 27 |

| | |
|--|----|
| 4.4 - Procedimentos | 28 |
| 4.4.1 - Peniscopia..... | 29 |
| 4.4.2 - Coleta de células..... | 30 |
| 4.4.3 - Biópsias..... | 30 |
| 4.4.4 - Histopatológico..... | 31 |
| 4.4.5 - Extração do DNA..... | 31 |
| 4.4.6 - Amplificação do gene β -globina humana | 33 |
| 4.4.7 - Amplificação do DNA viral | 35 |
| 4.4.8 - Tipagem do papilomavírus humano | 37 |
| 4.4.8.1 - Hibridização em pontos (" <i>Dot blot</i> ") | 37 |
| 4.4.8.2 - Tipagem dos produtos da PCR por RFLP..... | 39 |
| 4.4.8.3 - Tipagem por hibridização reversa " <i>line blot</i> "..... | 40 |
| 4.4.8.3.1- PCR para amplificação das amostras a serem tipadas pelas tiras Roche | 40 |
| 4.4.8.3.2 - Análise do produto amplificado | 41 |
| 5 - Análise estatística..... | 43 |
| 6 - Resultados..... | 44 |
| 7 - Discussão | 61 |
| 8 - Conclusões | 76 |
| 9 - Anexos..... | 78 |
| 10 - Referências Bibliográficas | 85 |

LISTA DE ABREVIÇÕES, SÍMBOLOS E SIGLAS

| | |
|--------------------------------|--|
| °C | Grau Celsius |
| µL | Microlitro |
| aa | Aminoácido |
| AIDS | Síndrome da imunodeficiência adquirida |
| CEP | Comitê de ética e pesquisa |
| CMV | Citomegalovírus |
| DNA | Ácido desoxirribonucléico |
| DST | Doença sexualmente transmissível |
| dNTP | Deoxinucleosídeo-trifosfato |
| EIA | Ensaio imunoenzimático |
| ENV | Gene do envelope viral |
| GAG | Gene do core viral |
| GP | Glicoproteína |
| H ₂ SO ₄ | Ácido Sulfúrico |
| HC/FMUSP | Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo |
| HBV | Vírus da Hepatite B |
| HCV | Vírus da Hepatite C |
| HIV-1 | Vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 |
| HPV | Papilomavírus Humano |
| HTLV-1 | Vírus T-linfotropico humana do tipo 1 |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |

| | |
|------------------|--|
| INCA | Instituto Nacional do Câncer |
| ILPC | Instituto Ludwig e Pesquisa sobre o Câncer |
| Kb | Kilobase |
| LCR | <i>Long Control Region</i> |
| LTR | <i>Long Terminal Repeat</i> |
| RNA _m | Ácido ribonúcleico mensageiro |
| nM | Nanômetro |
| NT | Nucleotídeo |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| ORFS | <i>Open Reading Frame</i> |
| pb | Pares de bases |
| PCR | Reação em cadeia de polimerase |
| POL | Gene da polimerase |
| RFLP | Análise de polimorfismo de fragmentos de restrição |
| RNA | Ácido ribonucléico |
| RNAse | Enzima que degrada RNA |
| RT | Transcriptase reversa |
| TAQ | <i>Thermophilus aquaticus</i> |
| U | Unidade |
| UDI | Usuário de drogas intravenosas |
| VDRL | <i>Venereal Disease Research Laboratory</i> |

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Distribuição do número e porcentagem dos casos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com as características sócio-demográficas. 46
- Tabela 2.** Distribuição do número e porcentagem dos casos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com as características do comportamento sexual e antecedente de DST e tabagismo... 48
- Tabela 3.** Distribuição do número e porcentagem dos casos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com o tipo de parceria sexual e do uso de preservativo masculino..... 50
- Tabela 4.** Distribuição do número e porcentagem dos casos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com as características do uso de preservativo masculino com as práticas sexuais. 50
- Tabela 5.** Distribuição do número e porcentagem dos casos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com a presença de circuncisão, lesão peniana e lesão aceto branca na peniscopia.51
- Tabela 6.** Distribuição do número e porcentagem dos casos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com os resultados sorológicos de HCV, HBV e sífilis (VDRL)..... 52
- Tabela 7a.** Distribuição do número e porcentagem de acordo com esfoliado peniano adequado a PCR de HPV nos grupos HIV positivo e negativo..... 53
- Tabela 7b.** Distribuição do número e porcentagem de acordo com a positividade da PCR de HPV nos esfoliado peniano nos grupos HIV positivo e negativo..... 53
- Tabela 8.** Distribuição do número e porcentagem dos casos HPV positivos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com as características sócio-demográficas..... 54
- Tabela 9.** Distribuição do número e porcentagem dos casos HPV positivos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com as características do comportamento sexual e antecedente de DST e tabagismo..... 55

- Tabela 10.** Distribuição dos casos positivos para HPV, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com o tipo de parceria sexual e do uso de preservativos masculino. 56
- Tabela 11.** Distribuição do número e porcentagem dos casos HPV positivos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com a presença de circuncisão, lesão peniana e lesão aceto branca na peniscopia. 56
- Tabela 12.** Distribuição do número e porcentagem dos casos de HPV detectado pela PCR nos esfregaços penianos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com os genótipos. 57
- Tabela 13.** Distribuição do número e porcentagem dos casos de HPV detectado pela PCR nos esfregaços penianos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com a oncogenicidade. 58
- Tabela 14.** Frequência dos tipos de HPV nas amostras nos grupos HIV positivo e negativo. 58
- Tabela 15.** Distribuição do número e porcentagem dos casos de HPV detectado pela PCR nos esfregaços penianos, no grupo HIV positivo de acordo com os níveis de linfócitos T CD4 e carga viral do HIV. 59
- Tabela 16.** Distribuição dos casos positivos para HPV, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com os resultados sorológicos de HCV, HBV e Sífilis (VDRL). 60

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------------|--|----|
| Figura 1. | Modelo atômico do capsídeo do papilomavírus humano. | 6 |
| Figura 2. | Mapa físico do genoma do HPV-16. | 7 |
| Figura 3. | Árvore filogenética do HPV. | 11 |
| Figura 4. | O ciclo replicativo do papillomavírus humano. | 14 |
| Figura 5. | Integração do HPV no genoma celular. | 15 |
| Figura 6. | Lesões clínicas de HPV no pênis. | 19 |
| Figura 7. | Lesões clínicas de HPV no pênis. | 19 |
| Figura 8. | Lesões subclínicas, após colocação de ácido acético a 5%. | 20 |

Resumo

Silva RJC. Prevalência da infecção pelo papilomavírus humano (HPV) em homens soropositivos para HIV e homens parceiros de mulheres com infecção pelo HPV. [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006.

O papilomavírus humano (HPV) é provavelmente o agente mais prevalente das doenças sexualmente transmissíveis do trato genital. O HPV é responsável pelo câncer do colo uterino e está associado com a metade dos casos de câncer de pênis. A maioria dos estudos sobre HPV foi realizada nas mulheres e poucos estudos realizados na população masculina, e em indivíduos soronegativos para o HIV. Pessoas vivendo com HIV/aids têm um potencial risco para as doenças relacionadas ao HPV e uma rápida progressão para transformação maligna. Este estudo foi realizado para comparar a prevalência de DNA de HPV no pênis de homens HIV positivos e negativos e correlacionar com as variáveis de risco para a aquisição da infecção do HPV. Estudamos 144 homens adultos, metade infectada pelo HIV, para detecção do DNA do HPV em raspados da superfície peniana. Foi utilizada PCR genérica com iniciadores PGMY09/11, seguida de hidridização em pontos. A prevalência de HPV DNA nos indivíduos infectados pelo HIV foi de 59% e, no grupo HIV negativo, de 67%. No grupo HIV positivo, a presença do HPV DNA foi significativamente mais elevada na faixa etária entre 30 e 40 anos. No grupo HIV negativo, a prevalência ocorreu entre 18 e 29 anos. Os indivíduos postectomizados apresentaram menor positividade de HPV nos dois grupos, porém essa diferença não foi significativa. A presença de lesão acetobranca, pela peniscopia, não aumentou a probabilidade de detectar DNA de HPV. Os participantes, com e sem lesão acetobranca ao exame de peniscopia, apresentaram prevalência de HPV semelhantes em ambos os grupos. Pacientes infectados pelo HIV mostraram múltiplos tipos de HPV, em maior frequência que naqueles não infectados pelo HIV. Os tipos HPV 6/11 foram os mais frequentes nos dois grupos, e os tipos oncogênicos (16/18) foram os mais frequentes nos pacientes infectados pelo HIV. Os tipos não-oncogênicos foram mais frequentes em indivíduos soronegativos para o HIV. No grupo HIV positivo, a prevalência do DNA do HPV foi significativamente mais elevada entre homens que fazem sexo com homens, naqueles com maior número de parceiros sexuais, com antecedente de DST, tabagismo e antecedente de hepatite B. Os indivíduos com lesão clínica peniana apresentaram maior positividade de HPV nos dois grupos. Pacientes infectados pelo HIV apresentaram maior detecção de HPV nas lesões clínicas penianas que no grupo não infectado pelo HIV. Observou-se maior prevalência de HPV DNA nos pacientes HIV positivos com número de linfócitos T CD4 menor que 200 células/mm³.

Descritores: 1.PAPILLOMAVÍRUS HUMANO 2.HIV 3.SÍNDROME DE IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA 4.VÍRUS ONCOGÊNICOS 5.CONDILOMA ACUMINADO 6.REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE 7.LINFÓCITOS T CD4-POSITIVOS 8.CARGA VIRAL.

Summary

Silva RJC. Prevalence of human papillomavirus (HPV) infection in HIV-seropositive men and HIV-seronegative men partners of women with HPV infection. [Master Thesis]. Sao Paulo: School of Medicine, University of Sao Paulo; 2006.

The human papillomavirus (HPV) infection is one of the most common sexually transmitted agents of the genital tract. HPV is responsible for cervical cancer and is associated with half of the cases of cancer of the penis. The majority of HPV studies were carried out in female populations and few studies were conducted in males, particularly in HIV-seronegative individuals. People living with HIV/aids has a potential risk to develop illnesses related to HPV and a fast progression to malignant transformation. This study was carried out to compare the prevalence of HPV DNA in HIV positive and negative men, and to correlate these results with the risk variables for the acquisition of HPV. We studied 144 adult men, half of them HIV+, for HPV DNA detection on their penile surface. HPV testing was performed with generic PCR with PGMY09/11 primers, followed by hybridization by dot blot. HPV DNA prevalence in the HIV- infected individuals was 59%, and 67% among HIV-negative. In the HIV positive group, HPV DNA presence was significantly higher in the age range between 30 and 40 years. In the HIV-negative group, the higher HPV prevalence occurred between 18 and 29 years. The circumcised individuals were less positive to HPV in both groups of men; however, this difference was not significant. Presence of an acetic white lesion in the peniscopy, did not determine higher possibility to detect HPV DNA. The participants with and without acetic white lesion in the peniscopy showed similar presence of HPV DNA in both groups. HIV-infected subjects had more multiple HPV types in their penises, as compared to those HIV sero-negative subjects. Types HPV 6/11 were the most frequently found in both groups of individuals, but oncogenic types (16/18) were most often detected in the HIV-infected individuals. The non-oncogenic types were more frequently found in HIV-seronegative individuals. In the HIV-1-infected group, HPV DNA prevalence was significantly higher among men who have sex with men, with larger number of sexual partners, with previous history of STD, tobacco consumption and previous infection with hepatitis B virus. Subjects with clinical penile lesions had higher HPV positivity in both groups, with a tendency for more HPV DNA detection in the lesions of those HIV-seropositive. Among HIV-1-infected subjects, higher HPV DNA prevalence was seen among individuals with T CD4 cells count below 200 cells/mm³.

Key Words: 1. HUMAN PAPILLOMAVÍRUS 2. HIV 3. ACQUIRED IMMUNODEFICIENCY SYNDROME 4. ONCOGENIC VÍRUS 5. CONDYLOMA ACUMINATUM 6. POLYMERASE CHAIN REACTION 7. T CD4+ LYMPHOCYTES 8. VIRAL LOAD.

1 - Introdução

Do ponto de vista epidemiológico, estudos revelam que a infecção genital, ocasionada pelo papilomavírus humano (HPV), é um problema de importância crescente, devido à sua elevada frequência, associação ao câncer e implicações clínicas e pessoais (Baseman e Koutsky, 2005). É considerada uma doença sexualmente transmissível, cuja prevalência varia entre 2% a 68%, de acordo com os relatos da literatura. Essa variação é decorrente do tipo de população estudada e do emprego de diferentes métodos de diagnósticos nos vários estudos (Bauer et al. 1991; Hildesheim et al. 1994; Hippelainen et al. 1993; Derchain et al. 1995; Franco et al. 1995; Ho et al. 1995; Burk et al. 1996; Castellsagué et al. 1997; Strand et al. 1998; Syrjanen et al., 1999; Baseman e Koutsky, 2005). Apresenta tendência de crescimento da prevalência, pela acumulação de casos pela infecção, devido a uma das características peculiares do HPV, que consiste na impossibilidade de remoção total do vírus do epitélio infectado, mediante intervenções médicas (Ward et al. 1994; Lassus et al., 1994), e por se tratar de uma infecção do epitélio, muitas vezes, multicêntrica e com poucos sintomas ou assintomática (Gross, 1997).

Estima-se que a maioria das pessoas sexualmente ativas está exposta ao HPV, em algum momento de suas vidas. Estudos relatam que cerca de 10% a 20% da população adulta, sexualmente ativa, apresentam infecção pelo HPV, embora apenas 1% apresente o condiloma clássico e 2%, lesões visíveis, somente após a aplicação do ácido acético (Gollnick et al., 2001). Em 1999, o “Centers for Diseases Control and Prevention (CDC)” estimava

5,5 milhões de casos novos de HPV, por ano, nos Estados Unidos. No Brasil, segundo dados populacionais do IBGE, e aplicando a projeção da literatura mundial, supõe-se a existência de 3 a 6 milhões de homens infectados pelo HPV (I Consenso Brasileiro de HPV, 2000). Nos últimos 30 anos, vários estudos foram realizados para a compreensão da história natural da infecção causada pelo HPV e dos mecanismos celulares na gênese neoplásica, diagnóstico, tratamento e controle nas mulheres. Todos esses conhecimentos proporcionaram um impacto positivo significativo, entretanto, ainda permanecem como desafio, já que constitui uma das principais causas de morbidade na população masculina, no que diz respeito a doenças sexualmente transmissíveis. De fato, o homem tem um papel importante na disseminação do HPV e muito se tem discutido sobre sua participação nas freqüentes recidivas e persistência da infecção entre mulheres. Como outras doenças sexualmente transmissíveis, alguns sugerem, o HPV pode ser mais facilmente transmitido de homens para mulheres do que de mulheres para homens (Kyo et al., 1994; Champion et al., 1985).

A infecção por HPV tem sido, também, correlacionada com câncer do ânus em homens e mulheres, estimando-se que, aproximadamente, 85% dos 44.000 casos de câncer do ânus que ocorrem no mundo, por ano, sejam devidos à infecção por HPV (IARC, 1999). Nos EUA, o câncer de ânus afeta cerca de 3400 homens e mulheres, por ano, e, nos últimos 15 anos, presenciou-se aumento de mais de 35% entre as mulheres (Palesfsky, 1998). Além disso, cerca de 30 a 50% dos cânceres de vulva, vagina e pênis podem ser atribuídos à infecção por HPV, bem como 20% dos cânceres da

orofaringe e 10% dos cânceres da laringe, dos tratos respiratórios e digestivos (IARC, 1995).

Na literatura, a maioria dos estudos epidemiológicos da infecção pelo HPV refere-se a indivíduos HIV negativos (Baldwin et al., 2003; Castellsagué et al., 1997; Lazcano-Ponce et al., 2001; Svare et al., 2002; Weaver et al., 2004). Vários estudos, entretanto, mostram que indivíduos, genéticos e ou iatrogenicamente imunossuprimido, apresentam alto risco de infecção por HPV e de doenças a ele relacionadas (Chopra et al., 1997; Arany et al., 1998, Gage et al., 2000; Silverberg et al. 2002).

Estudos revelam ainda, que infecções por HPV têm uma probabilidade menor de persistir em homens do que em mulheres (Wideroff et al. 1996; Svare et al. 1997; Van Doornum et al., 1994). Talvez, esta seja uma das razões para que estudos relacionados às mulheres tenham sido mais desenvolvidos, justificando o número reduzido de estudos na população masculina.

A co-infecção HPV-HIV é objeto de vários estudos, devido aos riscos aumentados de neoplasias benignas e malignas anogenitais (Palefsky et al., 1998; Breese et al., 1995; Braum em 1994, Rezza et al., 1997; Sun et al., 1997; Aynaud et al., 1998) e às diferenças nos aspectos evolutivos e no comportamento epidemiológico.

É reconhecido que a infecção pelo HIV, por comprometer o sistema imunológico, faz com que aumente o risco de infecção pelo HPV. Estudos mostram um aumento no risco, de até dez vezes, de ter verrugas genitais, podendo ser três vezes maior a prevalência de HPV entre mulheres HIV positivas

(Garzetti et al., 1995). Além disso, o quadro clínico da infecção pelo HPV parece ser muito mais agressivo, quando se trata de indivíduos imunocomprometidos (Arany et al. 1998; Gage et al., 2000; Silverberg et al., 2001).

No que diz respeito aos estudos sobre HPV entre homens que integram grupos vulneráveis, dentre os poucos relatos na literatura, podem ser destacados os desenvolvidos por Wikstrom et al. (1992), Law et al. (1991) e de Mandal et al. (1991), que constataram prevalências mais elevadas (63% a 84%) entre homens que procuraram clínicas de doença sexualmente transmissível. No Brasil, a insuficiência de estudos nessa linha de pesquisa que instigam a curiosidade científica para investigar essa ocorrência em populações vulneráveis, em serviços que atendam a essa população específica. Em face disso, decidimos estudar a prevalência dos tipos de HPV em uma população masculina, com alto risco para as DST, em um serviço especializado, na cidade de São Paulo, Brasil.

2 - Revisão Bibliográfica

2.1 - Biologia do HPV

Os papilomavírus constituem um grupo de pequenos vírus de DNA, pertencentes à família *Papillomaviridae*, gênero *Alfa*, *Beta*, *Gama...*-*papillomavirus*, capazes de infectar animais e homens (Bernard, 2005). São vírus epiteliotrópicos, podendo induzir no homem uma grande variedade de lesões proliferativas (Bernard, 2005). Os HPV são altamente espécie-específico, não havendo nenhum caso relatado na literatura, até o momento, em que o papilomavírus de uma espécie cause infecção produtiva em outra espécie (IARC, 1995). Atualmente, há mais de 200 tipos de HPV descritos. Entretanto, cerca de 100 tipos de HPV foram identificados, com seus genomas inteiros, isolados e completamente seqüenciados (Bernard, 2005). Aproximadamente, 40 tipos infectam o trato anogenital, sendo que, pelo menos, 20 estão associados ao carcinoma do colo do útero (revisado por de Villiers, 2001).

O HPV possui um genoma de DNA dupla fita, circular, não envelopado, com simetria icosaédrica e constituído por 7.200 a 8.000 pares de base (Doorbar et al, 1986 e 1987; Komly et al., 1986). O material genético está envolto por um capsídeo, que possui um diâmetro de 50nm. Este, por sua vez, possui 72 subunidades (capsômeros), formadas por duas proteínas estruturais, denominadas de L1 e L2 (Modis et al., 2002). **Figura 1.** A proteína principal que compõe o capsídeo viral, L1, é gênero-específica, serve como medidor indireto da infectividade; possui cerca de 55kD e representa em torno

de 80% de toda a proteína viral. A proteína secundária do capsídeo viral, L2, é altamente tipo-específica, tendo cerca de 70kD (Brown et al., 1993).

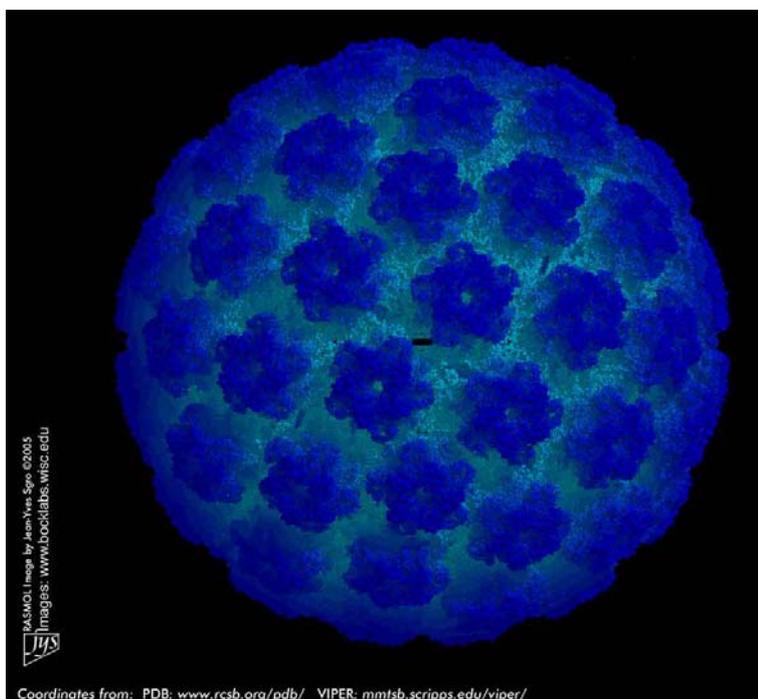


Figura 1 Modelo atômico do capsídeo do papilomavírus humano.

O genoma do vírus está dividido em três regiões, denominadas ORFs (*Open Reading Frames* ou unidades de tradução), as quais se encontram em uma mesma fita de DNA, hoje, conhecidas como genes que codificam as proteínas virais. No genoma viral, existem três fragmentos subgenômicos, que podem ser identificados: região precoce (*Early*), que representa 45% do genoma, região tardia (*Late*), que representa 40% do genoma, e a região denominada NCR (*non-coding region*) ou LCR (*Long Control Region*), que representa 15% do genoma e contém elementos regulatórios da transcrição e da replicação viral (Sousa et al. 1990) - **Figura 2**.

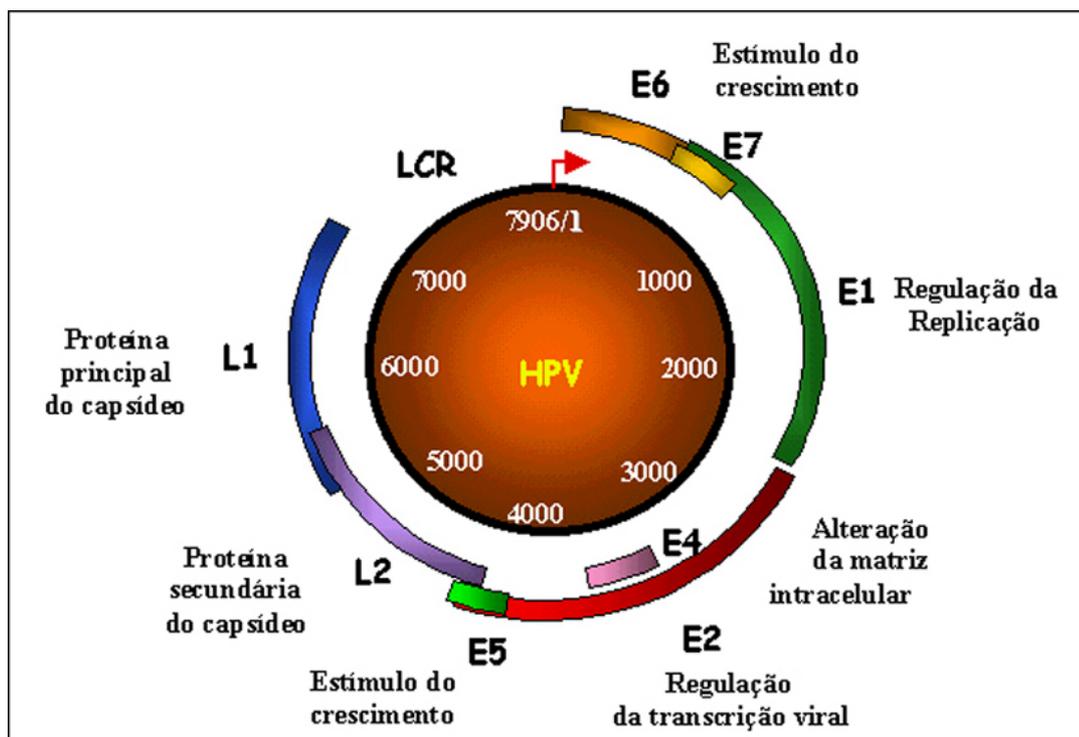


Figura 2. Mapa físico do genoma do HPV-16. Região precoce (*Early*), região tardia (*Late*) e LCR (*Long Control Region*) que corresponde à região regulatória (Revisado por Villa, 1997)

Há oito genes na região precoce, denominados de E1 a E8, com importantes funções na replicação (E1), na transcrição do DNA (E2, E1) e na transformação celular (E5, E6 e E7) (Chen et al., 1982; revisado por zur Hausen, 2000).

A proteína codificada pelo gene E2, além de controlar a transcrição dos genes virais - E6 e E7, parece possuir atividade estimuladora da função da proteína supressora tumor p53. A proteína E2 também interage com E1 na estimulação da replicação, por facilitar a ligação de E1 à origem de replicação (Chiang et al. 1992).

A detecção da proteína E4 é feita nas camadas mais diferenciadas do epitélio infectado (Palefsky et al. 1991), durante o ciclo produtivo viral (Doorbar et al. 1986). A função de E4 ainda não é bem conhecida acredita-se que sua produção esteja ligada à diferenciação terminal dos queratinócitos. Para alguns autores, a proteína E4 seria responsável pela alteração da arquitetura celular, conhecida como coilocitose (Roberts et al. 1997; Doorbar et al. 1986). O rompimento da arquitetura da célula pode facilitar a liberação de partículas virais (Doorbar et al., 1991).

A proteína E5 é a principal proteína transformante dos papilomavírus bovinos (Schiller et al. 1986), enquanto que nos HPV apresenta apenas uma fraca atividade de transformação, amplificando o sinal mitogênico do receptor de crescimento epidérmico (Pim et al. 1992).

A expressão do gene E6 consiste de uma proteína nuclear de cerca de 150 aminoácidos, que se liga ao produto do gene p53 (Werness et al. 1990), levando à sua degradação pela via de proteólise dependente de ubiquitina (Scheffner et al. 1990 e 1993). A proteína p53 tem como função, a regulação do ciclo celular, e por isso, o seu gene é considerado como supressor tumoral (Kern et al., 1991; revisado por Levine, 1997). Assim, sua degradação, promovida por E6 de HPV, desregula este controle. Acreditava-se que apenas as proteínas E6 de HPV, de alto risco oncogênico, fossem capazes de se ligarem à p53 (Crook et al., 1991; Lechner e Laimins, 1994) e, devido ao fato de tanto pRB, como p53, serem proteínas supressoras de tumor e perderem sua função, o resultado é a proliferação celular descontrolada (O'Connor et al., 1997). No entanto, logo depois, Storey e

colaboradores (1998) observaram que E6 de HPV-11 também é capaz de degradar p53, mas com menor intensidade do que a proteína de HPV-16. Uma observação importante é que somente as proteínas E6/E7 de HPV, de alto risco oncogênico, podem desempenhar a atividade de imortalização nos queratinócitos humanos primários e transformação celular, mas as proteínas análogas de HPV de baixo risco oncogênico não têm estas atividades (O'Connor et al. 1997).

O produto do gene E7 é uma fosfoproteína, com cerca de 100 aminoácidos, que se liga à forma hipofosforilada da proteína celular pRB, produto do gene retinoblastoma, um gene supressor de tumor. A proteína E7 forma um complexo com as proteínas de controle do ciclo celular, como pRB, p107, p130 e ciclina A, e esta habilidade parece estar relacionada à sua capacidade de induzir a proliferação e imortalização de células (Dyson et al., 1989 e 1992; Tommasino et al., 1993). A associação E7-pRB faz com que pRB perca sua função de regular negativamente o ciclo celular (Münger et al., 1989; O'Connor et al., 1997). As proteínas E7, dos tipos de HPV de alto risco oncogênico, como 16 e 18, ligam-se a pRB com maior afinidade que aqueles classificados como de baixo risco oncogênico, por exemplo, 6 e 11 (revisado por zur Hausen, 2000).

Os genes L1 e L2, da região tardia, codificam as proteínas principal e secundária do capsídeo, respectivamente, ambos são seqüências altamente conservadas entre todos os papilomavírus (Bernard et al. 1994a). Conforme mencionado anteriormente, a proteína L1 é a mais abundante do capsídeo viral e constitui cerca de 80% do total das

proteínas virais. Ela possui, ainda, epítomos tipo-específicos e é altamente imunogênica. A proteína L2, associada à L1, participa da incorporação do DNA viral (revisado por Zhou & Frazer, 1996). Em contraste aos genes precoces, os genes tardios são expressos nas camadas superficiais do epitélio (Howley, 1996; revisado por zur Hausen, 2000).

2.2 - Classificação dos tipos de HPV

Recentemente, a nova taxonomia dos Papilomavirus foi reconhecida pela ICTV (International Council on the Taxonomy of Viruses) como um vírus pertencente à família *Papillomaviridae*, gênero papilomavirus Alfa, Beta Gama e outros (de Villiers et al., 2004). Clinicamente, o mais importante gênero é o Alfa-papillomavirus, pois contém todos os tipos de HPV associados às lesões da mucosa genital. **Figura 3.**

A classificação em tipos de HPV é feita com base na homologia de suas seqüências de DNA. Atualmente, variações no genoma nos genes L1, E6 e E7, menores que 2%, são consideradas como variantes dos tipos de HPV, variações entre 2% e 10%, como subtipos, e variações maiores que 10%, como novos tipos de HPV (Bernard et al. 1994b). Os HPV foram numerados de acordo com a ordem de identificação, de forma que o HPV do tipo 1 foi o primeiro a ser descrito e o HPV18, o décimo oitavo, assim por diante.

Atualmente, há mais de 200 tipos de HPV descritos. Entretanto, destes, apenas cerca de 100 tipos de HPV foram identificados, com seus genomas

Os tipos de HPV que infectam o trato genital podem ser divididos em dois grupos. Os tipos que pertencem ao grupo de baixo risco oncogênico, que ocorrem, freqüentemente, em lesões benignas, lesões intraepiteliais de baixo grau e, raramente, são encontrados em lesões cancerosas. Eles são os tipos 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, e CP6108. O grupo de alto risco oncogênico, que ocorre, freqüentemente, em lesões intraepiteliais de alto grau e, especialmente, nos carcinomas, são os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82 (Munoz et al, 2003). Os tipos 26, 53 e 66 são provavelmente de alto risco oncogênico, e os tipos 34, 57 e 83 são de risco indeterminado (Munoz et al, 2003).

2.4 - Replicação e transcrição Viral

Os HPV infectam as células da camada basal do epitélio, através de microlesões. Como os HPV não codificam enzimas necessárias para sua própria replicação, eles possuem estratégias que asseguram a continuação do ciclo normal das células suprabasais, permitindo a replicação viral (Galloway, 2003). As interações precisas entre as proteínas do capsídeo e dos receptores celulares não estão claras, embora estudos sugiram que o sulfato de heparina seja o mediador inicial para a entrada do vírus na célula (revisado por Doorbar, 2005). Nessa fase, a expressão gênica viral é amplamente suprimida, embora a expressão de alguns genes virais precoces (E6 e E7) seja limitada, resultando na intensificação da proliferação das células infectadas e na sua expansão lateral no epitélio.

A transcrição viral é iniciada a partir do promotor p97 (em HPV-16), determinando um único transcrito policistrônico, iniciado em E6 (revisado por zur Hausen, 1996), o qual pode, ou não, ser processado e ter, como resultado final do processo traducional, mais de uma proteína, a partir de uma mesma seqüência codificadora (Arends et al., 1990). A regulação da transcrição dos genes virais é complexa e controlada por fatores de transcrição virais e celulares. A maioria dessas regulações ocorre na região LCR, que varia um pouco em relação à composição de nucleotídeos entre os diferentes tipos de HPV, conforme apresentado anteriormente. A região LCR encontra-se entre L1 e E6, possui entre 500 e 1000 pb. Trata-se de uma região onde não existe uma ORF de tamanho detectável (Chan et al., 1989). Essa região contém a origem de replicação do DNA, vários promotores para a síntese de RNAm e seqüências reguladoras da transcrição do DNA (Broker, 1987; Brown & Fife, 1990) – **Figura 2.**

Em um segundo momento, parte da progênie viral migra para as células em diferenciação da camada suprabasal, onde se inicia a expressão dos genes virais tardios. O genoma circular é então replicado, e são formadas as proteínas estruturais que irão compor o capsídeo viral. Nas camadas superiores do epitélio ocorre a montagem das partículas virais completas e, conseqüentemente, a liberação das mesmas para que o ciclo seja reiniciado (zur Hausen, 2002) – **Figura 4.**

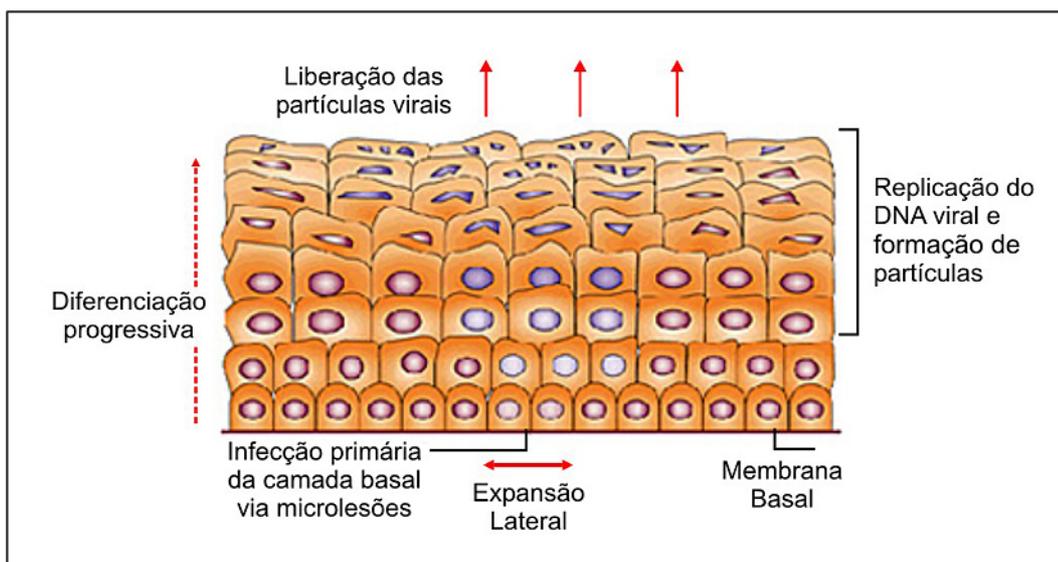


Figura 4. O ciclo replicativo do papilomavírus humano. Para que a infecção seja produtiva, o vírus precisa infectar a camada basal e isso normalmente ocorre através de microlesões na pele ou na mucosa. As células infectadas, ao se dividirem, espalham-se lateralmente. Algumas dessas células progenitoras migram para as camadas diferenciadas suprabasais, onde genes virais são ativados, o DNA viral é replicado e as proteínas do capsômero são formadas. As partículas virais surgem e são liberadas juntamente com a descamação celular na superfície da mucosa, podendo infectar células próximas (Modificado de zur Hausen, 2002).

O período mínimo entre a infecção e a liberação das partículas de HPV, é, em média, de três semanas. Estudos em modelos animais e a observação clínica mostram que esse intervalo pode variar, de quatro semanas a muitos meses (Oriol, 1971). Durante essa fase, grande parte das lesões é eliminado pelo sistema imune espontaneamente, mas em alguns casos, os vírus podem escapar dos mecanismos de defesa do hospedeiro, resultando em uma infecção persistente (Stanley, 1998).

A integração do DNA viral no DNA celular parece ocorrer ao acaso. Por outro lado, a quebra do genoma viral ocorre, geralmente, entre a extremidade 3' do gene E1 e a extremidade 5' do gene E2. **Figura 5.** Esta ruptura leva à interrupção do processo de regulação negativa da transcrição viral, antes

exercido por E2 (Howley, 1996). Ocorre então, a síntese contínua das oncoproteínas virais E6 e E7, propiciando a imortalização celular. Os tipos virais que integram com mais freqüência ao genoma humano são os tipos 16 e 18 (Lowy et al., 1994). É importante ressaltar que as infecções por HPV, isoladamente, não são capazes, por si só, de induzirem progressão para lesões precursoras, sendo que menos de 2% das lesões induzidas por esse vírus evoluirão para a neoplasia invasora, o que demonstra a necessidade de outros eventos moleculares (Meijer et al., 2000). Por outro lado, nas lesões benignas, induzidas pelo HPV, o DNA viral é encontrado na forma epissomal, ou seja, não integrado ao genoma da célula hospedeira e em múltiplas cópias.

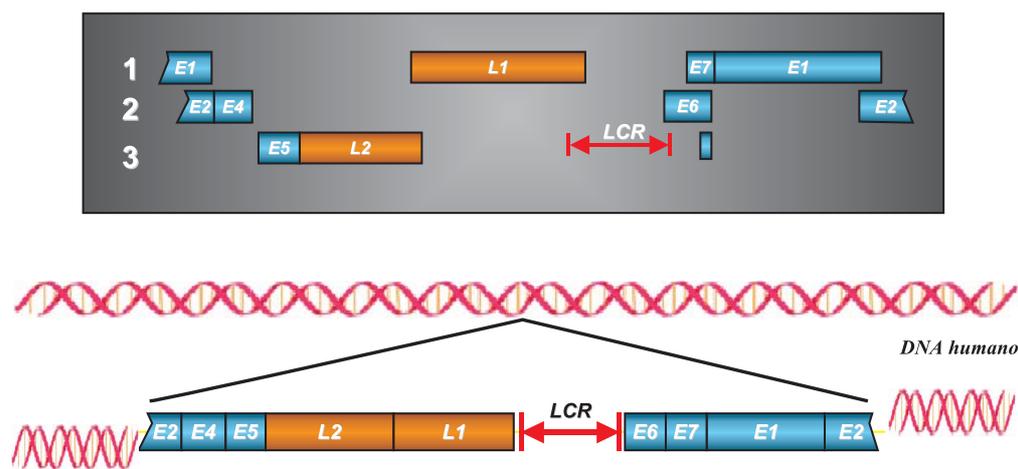


Figura 5. Integração do HPV no genoma celular.

2.5 - Co-fatores na infecção pelo HPV

Como a maioria das infecções pelo HPV, mesmo aquelas causadas pelos tipos de alto risco oncogênico, não necessariamente determina o desenvolvimento neoplásico, sendo estudados fatores ambientais ou do próprio hospedeiro, que podem ser necessários para o desenvolvimento

neoplásico. Como exemplos desses co-fatores são citados os hormônios, respostas imunológicas e herança genética. Como co-fator hormonal, cita-se a progesterona, cuja ação *in vitro* sobre a LCR viral, estimula a transcrição de HPV 16. Outros carcinógenos, como os encontrados no fumo, podem, também ter participação direta como agentes mutagênicos, ou provocarem imunodeficiência local (Villa, 1997). Quanto a fatores hereditários, Magnusson e colaboradores (2000) demonstraram que pelo menos 27% da variabilidade na suscetibilidade ao desenvolvimento neoplásico no colo uterino pode ser explicada pela herança genética.

2.6 - Transmissão do HPV

A transmissão do HPV é considerada, preferencialmente, sexual (Kjaer et al., 2001; Rotola et al. 1994; Siegel & Mellinger, 1992). Entretanto, dependendo do tipo de HPV e das lesões clínicas associadas ao HPV, pode ser transmitido pelo contato da pele com fômites, por auto-inoculação ou perinatal.

Diversos autores já demonstraram a presença do HPV em líquido amniótico, na pele e orofaringe de recém-nascido, em proporções de até 73% (Tseng et al., 1998; Kaye et al., 1994; Cason et al., 1995; Kaye et al., 1996; Pakarian et al., 1994). Apesar da alta proporção encontrada, não se observa um grande número de crianças com lesões, como seria esperado, na suposição de que toda contaminação resultasse em lesão.

A transmissão vertical do HPV é fortemente sugerida, considerando a ocorrência da papilomatose recorrente de laringe juvenil em crianças com

menos de dois anos de idade e a partir de alguns casos relatados de recém-nascidos que apresentavam condiloma genital ao nascer. Esses dados comprovam a tese de que o HPV pode acometer indivíduos sem atividade sexual, contudo, são eventos raros (Chen et al., 1993).

2.7 - Prevalência da Infecção pelo HPV em Homens

A análise de dados de sete estudos caso-controle sobre o câncer do colo do útero, desenvolvida por Franceschi e colaboradores em 2002, revelou uma prevalência de 13,1% entre esposos de mulheres saudáveis (controle), 21,5% entre aqueles de mulheres com carcinoma “*in situ*” e 17,5% entre esposos de mulheres com carcinoma invasivo de colo do útero, provando, com consistência, a evidência importante da presença da infecção do HPV em homens, como fator de risco para o câncer cervical.

Alguns autores encontraram uma prevalência do DNA de HPV entre homens saudáveis em torno de 16% na Finlândia (Hippeläniem et al., 1993), 35% em Seattle, EUA (Weaver et al., 2004), 49% e 44,6% no México (Lazcano-Ponce et al., 2001 e Lajous et al., 2005, respectivamente), 33,8% na Dinamarca (Kjaer et al., 2005) e 8,7% em Busan, Coréia do Sul (Shin et al., 2004).

Foram relatadas, conforme mencionadas anteriormente, prevalências mais elevadas, 63% a 84%, entre homens que freqüentavam clínicas de doença sexualmente transmissível (Wikstrom et al., 1992; Law et al., 1991; Mandal et al., 1991). Recentemente, a prevalência variou de 13% a 45% entre homens atendidos em clínicas de DST, em diferentes países (Baldwin

et al., 2003; Svare et al., 2002 e Wikstrom et al., 2000). Tal variação pode acontecer por diferenças no comportamento sexual e distribuição da idade da população estudada, pela sensibilidade do método de detecção do HPV, pela forma e local de coleta de material e existência de áreas endêmicas, por tipos específicos de HPV. Apesar da magnitude de prevalência na população masculina ser elevada, ao contrário do que ocorre entre mulheres, não se tem estabelecido associação expressiva entre infecção pelo HPV e tumores do aparelho geniturinário. De fato, o carcinoma de pênis é uma neoplasia rara, com incidência mais elevada em países em desenvolvimento, dentre eles, África e Ásia, com 10% a 20% de incidência (Pow-Sang et al., 2002). A frequência relativa desse tumor, nos Estados Unidos, é de 0,5%, enquanto que no Brasil é de 2,1% (Lopes et al., 2002). Recentemente, Bezerra et al (2001), analisando 82 amostras preservadas em parafina de câncer de pênis, constataram que um terço dos carcinomas de pênis estava relacionado ao HPV, e o tipo 16 foi o mais freqüente.

2.8 - Formas de apresentação da infecção pelo HPV

Tanto no homem, como na mulher, a infecção pelo HPV tem sido descrita sob três formas de apresentação: clínica, subclínica e latente.

A apresentação clínica mais comum é conhecida como verruga genital ou condiloma. Manifesta-se pela presença de lesão exofítica, com superfície granulosa, freqüentemente múltipla, da cor da pele, eritematosa ou hiperpigmentada e de tamanho variável. As lesões maiores assemelham-se à

“couve-flor” e as menores apresentam-se com aspecto de pápula, placa ou ainda filiformes (Handsfield et al 1997). – **Figura 6.**



Figura 6. Lesões clínicas de HPV no pênis.

Estão mais presentes em áreas úmidas, expostas ao atrito durante o coito, ou seja, no homem são mais comuns na glande, frênulo, corona e prepúcio e nas mulheres, na parte posterior do intróito vaginal, lábio menor, clitóris e lábio maior (Buechener, 2002). No homem, são pouco freqüentes na uretra e, quando existentes, geralmente estão localizadas na uretra distal e meato uretral, podendo haver prurido, ardor, sangramento e obstrução (Kirby, 1987; Oriel, 1971 Levine et al 1984) – **Figura 7.**

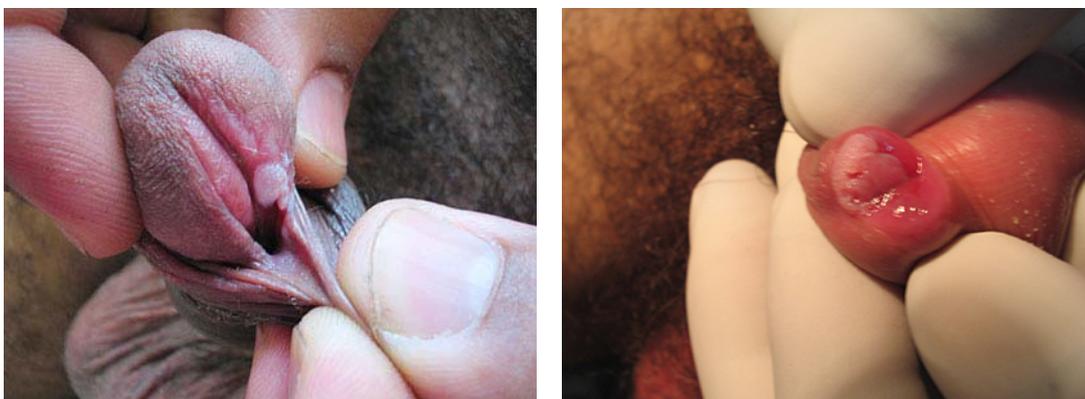


Figura 7. Lesões clínicas de HPV no pênis.

Lesões subclínicas foram inicialmente descritas por Meisels e colaboradores, em 1977. Nesta forma, a infecção do HPV caracteriza-se por áreas difusas de hiperplasia epitelial não-papilífera da camada germinativa basal e alterações citológicas características. A diferença histológica do condiloma é papilar, enquanto a forma subclínica é plana ou micropapilar (Reid et al., 1984). São muito mais freqüentes que as lesões clínicas, e visualizadas através de peniscopia após aplicação de ácido acético a 5%, o qual coagula e precipita as proteínas intracelulares e se caracteriza como epitélio acetobranco, máculas e pápulas (Lauro et al., 2000; Brown et al., 1999; Siegel & Mellinger, 1992). Em 1997, Troffatter relatou que a maioria das lesões era subclínica, porém mesmo em mãos experientes, o método por ele utilizado, apresenta baixa especificidade. – **Figura 8.**



Figura 8. Lesões subclínicas, após colocação de ácido acético a 5%.

Na forma latente a infecção de HPV só pode ser diagnosticada por meio de técnicas de biologia molecular, não havendo evidências clínicas, citológicas, histológicas ou peniscópicas (Lauro et al., 2000; Siegel &

Mellinger, 1992; Richart & Wright, 1991). Na latência, acredita-se que o DNA viral encontra-se na forma epissomal, aparentemente, sem atividade e replicando-se apenas uma vez a cada ciclo celular. Como a infecção nessa fase não é produtiva não existem alterações citológicas decorrentes de sua presença. Não são conhecidos os mecanismos pelos quais o HPV permanece nesse estado. Provavelmente, fatores imunológicos são determinantes dessa condição. Seu significado biológico é desconhecido e não se sabe quanto tempo o vírus pode permanecer nesse estado, nem quantos casos progredem dessa forma de infecção. Segundo Ferenczy em 1993, a presença do HPV em tecidos normais seria responsável pela recorrência de lesões, apesar dos tratamentos.

2.9 - Co-infecção HIV e HPV

Outra doença sexualmente transmissível de grande impacto social e médico é a infecção pelo HIV. No Brasil, de 1980 a 2004, foram notificados 362.364 casos de AIDS e somente em São Paulo, no mesmo período, 153.193 casos, segundo dados do Boletim Epidemiológico AIDST, do Ministério da Saúde do Brasil (Ministério da Saúde, 2005). O Ministério da Saúde do Brasil estima a existência de 400 a 600 mil portadores do HIV.

Uma das propriedades mais importantes do HIV é a presença de proteínas reguladoras, que atuam interagindo com outros genes do próprio HIV e com outros agentes infecciosos, como HTLV-I, HCV, CMV, Herpes simples e HPV.

O HIV-1 é um lentivírus que possui genes reguladores e estruturais. É constituído por dupla fita de RNA, coberta por uma camada lipoprotéica, o capsídeo, chamado de core viral, composto pelas proteínas p19, p24 e p55, codificadas pelo gene *gag*, um envelope glicoprotéico (gp41, gp120), codificado pelo gene *env*, e as enzimas transcriptase reversa (p66), protease (p55) e integrase (p31), codificadas pelo gene *pol*. Como nos outros retrovírus, nas porções finais do genoma do HIV-1, podem ser observadas seqüências repetidas terminais (LTR), que controlam a expressão dos outros genes do HIV. Além dessas proteínas estruturais, vários genes reguladores são observados, como *tat*, *rev* e *nef*, que controlam a replicação viral, quando ativados (Levy, 1995).

O ciclo replicativo do HIV-1 é iniciado, quando sua glicoproteína de superfície, gp120, reconhece e estabelece interações com as moléculas receptoras na superfície das células alvo do HIV-1. Essas células são caracterizadas pela presença do CD4+, cuja expressão ocorre em linfócitos/monócitos do sangue periférico, em órgãos linfóides e outros tecidos, incluindo fígado e intestino. As células da microglia no sistema nervoso central e as células dendríticas do sangue periférico, pele e mucosas (células de Langerhans), também são alvos do HIV-1 (Barker et al., 1995).

A ligação gp120-CD4 é de alta afinidade (Bour et al., 1995). A interação entre a gp120 e a molécula de CD4 não somente estabelecem a ligação da partícula viral com a superfície celular, como também resultam em reestruturação na conformação da gp120. Essas mudanças estruturais parecem gerar um sítio para interação dessa proteína com a molécula do co-

receptor, levando à formação de um complexo gp120-CD4-co-receptor (Clapham et al., 1997).

A importância maior, entretanto, dessa região da gp120, é o seu envolvimento na ligação com a célula a ser infectada (Cocchi et al., 1996). Este domínio é responsável pela determinação das principais características biológicas dos isolados virais, incluindo o tropismo da célula (de Jong et al., 1992).

Estudos mostram a possibilidade do HIV influenciar diretamente na expressão do HPV através de interações moleculares entre os genes virais. A proteína transativadora do HIV-1 (*tat-1*) tem múltiplas funções regulatórias *in vitro*. O *tat-1* pode estimular o crescimento das células do sarcoma de Kaposi, inibir a proliferação celular *in vitro* e transativar vários promotores virais. De fato, a proteína reguladora do HIV (gene *tat-1*) pode atuar sobre a E2 do HPV 16, levando ao aumento da expressão do HPV em pacientes co-infectados. Demonstrou-se que a *tat-1* interage com a região regulatória contracorrente (URR) do HPV 16 e reverte repressão mediada pelo E2 (Vernon, 1993). Isto proporciona um mecanismo potencial para explicar a expressão genética intensificada do HPV em mulheres infectadas pelo HIV.

Entretanto, deve-se enfatizar que, quando se considera um potencial interação molecular direta entre o HIV e o HPV, estes dois vírus não co-infectam células epiteliais do colo uterino. Empregando a imuno-histoquímica, Pomerantz e colaboradores em 1998, demonstraram antígenos do HIV em um número considerável de monócitos, macrófagos e células endoteliais, dentro da submucosa do colo uterino, porém apenas um pequeno número de células

infectadas pelo HIV, assemelhando-se a linfócitos, foi observado na mucosa do colo uterino. Esses achados imuno-histoquímicos, subseqüentemente, foram confirmados por um estudo, empregando PCR *in situ*, que não conseguiu detectar material genético do HPV ou HIV no epitélio escamoso do colo uterino (Nuovo et al., 1993). O HIV produz, progressivamente, deterioração local da imunidade celular, diminuição dos linfócitos T CD4+ e das células de Langerhans na pele (Chopra et al., 1997). Adicionalmente, a infecção crônica do HPV pode potencializar a patogênese do HIV, através da produção de citocinas inflamatórias (Gage, 2000).

Devido descrito acima, fica evidente a necessidade de estudar a infecção pelo HPV nos homens, principalmente, na população vivendo com HIV/Aids.

Assim, delimitou-se como objeto de investigação do presente trabalho, a identificação da prevalência de HPV no pênis em uma população determinada, circunscrita a um centro de referência e treinamento em DST/AIDS da rede pública de saúde, em São Paulo, tendo como população de estudo, tanto soropositivo, quanto soronegativos ao HIV.

3 - Objetivo Geral

Determinar a prevalência de DNA de HPV em amostras de pênis de homens HIV positivos e negativos, provenientes de um Centro de Referência e Treinamento em DST/AIDS da cidade de São Paulo.

3.1 - Objetivos Específicos

a) Determinar a prevalência de DNA de HPV no pênis de homens soropositivos para o HIV;

b) Determinar a prevalência de DNA de HPV no pênis de homens soronegativos para o HIV, em clínica de DST;

c) Detectar genótipos de HPV em esfregaços dos participantes do estudo pela reação em cadeia de polimerase e hibridização molecular em pontos;

d) Correlacionar as variáveis epidemiológicas que são consideradas de risco para aquisição de HPV.

4 - Casuística e Métodos

4.1 - Tipo de estudo

Trata-se de um estudo observacional, transversal de uma população de elevada vulnerabilidade as DST, distribuída em dois grupos (soropositivos e soronegativos ao HIV), desenvolvido entre 26 de fevereiro de 2004 a fevereiro de 2005, envolvendo preenchimento de formulário especialmente construído pelo pesquisador (Anexo 1), exame físico, exames laboratoriais sorológicos para Hepatites B e C e sífilis (VDRL) e dados registrados em prontuários médicos.

4.2 - População de estudo

O estudo envolveu uma população de 144 pacientes do sexo masculino, com idade entre 18 e 70 anos, que procuraram o ambulatório do CRT-DST/AIDS, São Paulo, e distribuídos em dois grupos. Desses, 72/144 (50%) eram parceiros de mulheres infectadas pelo HPV, que foram encaminhados, mediante referência, para o ambulatório de DST para realização da peniscopia, os quais, ao serem testados para HIV, apresentaram resultado negativo, constituindo, assim, o grupo HIV negativo. Os outros 72 homens, constituindo o grupo HIV positivo, eram pacientes atendidos no núcleo da especialidade de urologia, do CRT-DST/AIDS, e que apresentavam queixas urológicas e/ou lesão de pênis. Assim, para inclusão na população de estudo, foram adotados os seguintes critérios:

- Homens adultos maiores de 18 anos, não infectados pelo HIV, com suspeita de HPV, encaminhados para realização de peniscopia;
- Homens soropositivos para o HIV, atendidos no núcleo da especialidade de urologia, do CRT-DST/AIDS;
- Ser residente em São Paulo;
- Aceitação da participação voluntária no estudo, mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Foram utilizados como critérios de exclusão, apresentar:

- Idade menor de 18 anos;
- Diagnóstico prévio de câncer de pênis ou de ânus;
- Tratamento prévio de quimioterapia;
- Antecedentes de uso de interferon;
- Transplante renal e hematológico;
- Não estar de acordo com o TCLE.

4.3 - Aspectos Éticos

Este estudo foi realizado, após a apreciação e aprovação dos Comitês de Ética em Pesquisa do Centro de Referência e Treinamento em DST/AIDS do Programa Estadual de São Paulo e do Hospital das Clínicas /FMUSP.

A assinatura do TCLE (Anexo 2) e os dados para preenchimento do instrumento de avaliação sócio-comportamental foram obtidos, posteriormente ao convite, e mediante aceitação da participação livre e

esclarecida, por parte de pacientes, em entrevista individual, quando de seu comparecimento à consulta médica.

4.4 - Procedimentos

Com os indivíduos suspeitos de portar HPV, que foram convidados e aceitaram participar, a pesquisa de HPV incluiu: anamnese, que implicou preenchimento de um formulário pelo pesquisado (Anexo-1); exame físico geral e do genital e exames complementares. No exame físico genital, foi avaliada, sem magnificação, a presença, ou não, de lesões verrucosas no pênis, meato uretral, região pubiana, pele escrotal e região perianal. Foram realizadas a peniscopia, após embrocação com ácido acético a 5%, a coleta de células, por meio de escovação de todo o pênis, e biópsia, quando da presença de lesão. O raspado foi colocado em solução de NaCl a 0,9%, previamente identificado e armazenado, inicialmente, em nitrogênio líquido e, depois, a -70°C. Os materiais de biópsia colhidos foram divididos em duas partes: um fragmento foi colocado em formol a 10% e enviado ao Instituto Adolfo Lutz, São Paulo e um outro fragmento foi colocado em tubo cônico, com cerca de 2ml solução de NaCl a 0,9%, previamente identificado e armazenado, inicialmente, em nitrogênio líquido e, depois a -70°C . O raspado e o fragmento com salina foram enviados ao Instituto Ludwig de Pesquisas sobre Câncer para a pesquisa de HPV, por meio da PCR e hibridização em pontos.

4.4.1 - Peniscopeia

O diagnóstico da forma subclínica da infecção pelo HPV foi realizado por meio da peniscopeia (Baggish, 1982 e Levine et al., 1984). Este exame é análogo a colposcopia e consiste na visualização da genitália externa (pênis), com colposcópico (D.F.V. Vasconcellos, São Paulo, Brasil) de aumento de 16 vezes, inicialmente, sem a aplicação de ácido acético. No segundo momento, faz-se a aplicação de gazes embebidas em ácido acético a 5%, em quantidade suficiente para envolver toda a região peniana. Estas devem permanecer no local a ser examinado, por um período de 5 minutos. O ácido acético coagula e precipita as proteínas intracelulares, revela lesões brancas ou acentua lesões com relevos, e é reversível.

Após esse tempo, as gazes são retiradas, quando é possível observar a presença ou não, de lesões maculares e papulares esbranquiçadas. Estas lesões são denominadas de lesões acetobranças.

As lesões acetobranças são classificadas, segundo Wikström (1992), em:

- 1 - Típicas: presença de lesão bem demarcada, com ligeira elevação da borda e localização no centro de vasos terminais, com ou sem depressão do epitélio;
- 2 - Suspeitas: presença de lesão bem demarcada, ligeiramente elevada, com falta da parada da alça capilar;
- 3 - Atípicas: presença de lesão, exibindo uma borda acidentada, com ausência da parada da alça capilar.

4.4.2 - Coleta de células

Após a peniscopia, com ácido acético, foram realizados raspados da genitália externa, utilizando escova de coleta de endocérvice para Papanicolau, por cerca de 10 vezes, no sentido da glândula para o prepúcio, indo da região ventral direita para a esquerda, circundando todo o pênis. A escova foi colocada em tubos, tipo Ependorf, com cerca de 1ml de solução salina a 0,9%, previamente identificada e armazenada, inicialmente em nitrogênio líquido e depois a -70°C . Posteriormente, o material foi encaminhado ao Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer, para ser submetido a PCR para a detecção do DNA do HPV e Hibridização em pontos, conforme já mencionado.

4.4.3 - Biópsias

Para a realização da biópsia, anestesiou-se o local com xilocaína a 1%, sem vasoconstritor, com agulha de insulina. A infiltração do anestésico foi subcutânea, logo abaixo da lesão, com a finalidade, além da anestesia, de elevá-la e facilitar sua exérese com pinça de Gaylor-Medina. Logo após a retirada da lesão, o local foi tratado usando uma haste, com uma das extremidades contendo algodão embebido em ácido metacresolsulfônico concentrado (Albocresil[®]).

Parte do material, previamente identificado, fixado em formol a 10%, foi posteriormente, enviado ao Instituto Adolfo Lutz, para ser submetido a exame histopatológico. Outra parte foi colocada em 1ml de solução de

cloreto de sódio a 0,9%, armazenado a -70°C e, mais tarde, encaminhado ao Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer, para ser submetido a PCR para a detecção do DNA do HPV e Hibridização em pontos, conforme descrito anteriormente.

4.4.4 - Histopatológico

Esta forma de diagnóstico também se baseia no efeito do vírus sobre as células e tecidos infectados, sem identificar propriamente o vírus. O tecido proveniente da biópsia é preparado e corado pelo método de hematoxilina-eosina e analisado pela microscopia óptica.

A avaliação histológica de parte da amostra obtida, mediante biópsia, foi considerada:

- a) positiva para HPV, quando foram observados sinais citoarquiteturais sugestivos de atipias coilocitóticas;
- b) negativa para HPV, quando a avaliação histológica identificou normalidade ou processos inflamatórios crônicos inespecíficos;
- c) sugestivo para HPV, quando a avaliação histológica sugeriu qualquer uma das alterações: papilomatose, hiperplasia, queratinização ou hiperkeratose.

4.4.5 - Extração do DNA total das amostras obtidas com escova e por biópsia (Banerjee et al., 1995, modificado).

Preparo das Amostras

A) Biópsia: Os tubos contendo o fragmento em salina, foram centrifugados (Eppendorf, modelo 5415C, Alemanha) a 12.000 rpm, por 15 minutos. O sobrenadante foi retirado por aspiração a vácuo, e o restante estocado a -20°C até processamento.

B) Esfregaços: o material contido na escova foi, inicialmente, agitado vigorosamente, por aproximadamente, 60 segundos (Daiggee, modelo Genie 2, New York, EUA). Em seguida, com auxílio de uma pinça, a escova foi removida, e as células coletadas por centrifugação, a 12.000 rpm, por 15 minutos. O sobrenadante foi aspirado, a vácuo, e o sedimento foi processado. A esse sedimento, foram adicionados 200µl de solução de digestão, contendo 50mM Tris-HCl pH 7,5, 1mM EDTA pH 8,0 e 0,5% Triton X-100, e 200µl de solução de proteinase K (TEP), seguindo-se incubação da amostra em banho-maria (Sheldon, modelo 1203 VWR, Alemanha), à temperatura de 50°C, por um período de 48h, agitando ocasionalmente, e dando uma breve centrifugada para que o material ficasse todo imerso em solução e não disperso na tampa ou parede do tubo. Adicionou-se mais 50µl de TEP, após 24 horas. Após o período completo da digestão, a enzima foi inativada por 15 minutos, a 96°C, no aparelho de banho seco (Heat block, Eppendorf, Thermostatplus). Foram adicionados 200µl de acetato de amônio 6M pH 8,5 e misturados no vórtex por 20 segundos, seguidos de centrifugação por 14.000 rpm, por 10 minutos, à temperatura ambiente. O sobrenadante que contém o DNA foi então, transferido para um novo tubo de 1,5ml, ao qual foram adicionados 600µl de

Isopropanol frio. Foi misturado por inversão e incubado por uma noite, a -20°C ou, por 2 horas, a -70°C. Após esse período, os tubos foram colocados na centrífuga refrigerada de mesa (Eppendorf, 5804R C, Alemanha), a 12000 rpm, por 15 minutos, a 4°C. Descartou-se o isopropanol, por inversão, e adicionaram-se 600µl de etanol 70% e misturados por inversão. Foi centrifugado, novamente, por 15 minutos, a 4°C a 12000 rpm e o etanol 70% foi descartado por aspiração, cuidadosamente. Repetiu-se mais uma vez o procedimento de lavagem, seguida de Inversão cuidadosa do etanol 70% e deixando-se o sedimento secando sobre papel absorvente. O material, contendo o DNA purificado, foi ressuspenso em 50µl de TE pH 7,5.

4.4.6 - Amplificação do gene β -globina humana

As amostras de DNA foram submetidas à reação de PCR, utilizando-se os oligonucleotídeos GH20 (5'-GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC-3') e PCO4 (5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3'), que amplificam um fragmento de 268 pb do gene β -globina humana, garantindo a qualidade do DNA, para análise de HPV (Saiki et al.,1988).

A PCR do gene β -globina humana foi realizada em volume de 25µL, contendo 0,2mM de dNTPs, 2mM de MgCl₂, 80nM de cada iniciador(GH20/PCO4) e 0,5U de *Taq* DNA polimerase (Amersham Pharmacia Biotech, New Jersey, EUA) em tampão 1X (10mM Tris-HCl e 50mM KCl). Um controle negativo da reação contendo todos os componentes acima citados, exceto o DNA, foi incluído em todas as

amplificações. Como controle positivo da reação utilizou-se DNA extraído das linhagens celulares provenientes de carcinomas de colo uterino positivas para HPV, *HeLa* (HPV18) ou *SiHa* (HPV16).

As amplificações foram realizadas em termociclador (modelo Mastercycler gradiente-Eppendorf, Alemanha). As condições da PCR foram as seguintes: um passo inicial de 5 minutos a 95°C, para desnaturação, seguido de 40 ciclos de 1 minuto de desnaturação, a 95°C, 1 minuto a 55°C, e 1 minuto a 72°C, seguido de um último ciclo de 5 minutos a 72°C, para a extensão final e posterior manutenção, a 4°C.

O gel de poliacrilamida 8% com 0,75mm de espessura foi preparado com 7ml da solução de pré mix, que contém 26,6ml de acrilamida/bisacrilamida (metilenobisacrilamida) 29:1, 10ml de BTE (tampão Tris-Borato-EDTA (ácido tetraacético etilenodiamina) (Tris-borato 89mM e EDTA, pH 8,3 2mM) 10X concentrado em q.s.p para 100ml com água destilada e deionizada. Para a polimerização adicionaram-se 7µL de TEMED (tetrametiletlenodiamina) e 70µL de persulfato de amônio a 10%. Como marcador de peso molecular utilizou-se ØX174RF/*HaeIII*(0,5µg-40µg /µL)16µL de FICOLL e 80µL de TE. Após a polimerização, foram aplicados em gel, cerca de 5µL dos produtos amplificados, acrescidos de 2µL de tampão de amostra (0,25% de Azul de bromofenol; 0,25% de xileno cianol e 15% de Ficoll em água). Em seguida, o gel foi submetido à eletroforese, na fonte de tensão (modelo 250EX, Life Technologies, EUA), com voltagem constante de 100V, por cerca de 40 minutos, utilizando-se como tampão de corrida, BTE 1X concentrado, pH 8,3.

O processo de coloração com nitrato de prata (Sanguinetti et al., 1994) consistiu de uma fixação inicial, sob agitação, por 15 minutos, em uma solução de 10% de etanol e 0,5% de ácido acético. Após esse tempo, adicionaram-se 20ml de nitrato de prata 0,2%, por 10 minutos, ainda sob agitação. Desprezou-se a solução, lavou-se o gel em água destilada e deionizada, cerca de duas vezes, para tirar o excesso do fixador. Revelou-se em 3,0% de NaOH e 0,1% de formaldeído em água destilada e deionizada, por, aproximadamente, 15 minutos, sob agitação. O gel foi fixado por mais 10 minutos e, finalmente, feita a secagem do gel entre duas folhas de papel celofane hidrofílico incolor, sobre uma placa de vidro. A visualização dos fragmentos correspondentes a 268pb do gene β -globina humana foi feita por observação direta das bandas no gel.

As amostras negativas para a amplificação do gene da β -globina humana foram submetidas a uma nova amplificação, porém com o dobro do volume do DNA extraído da amostra. Independentemente dos resultados serem negativos, as amostras foram submetidas a PCR para amplificar o gene L1 de quase todos os tipos de HPV, usando os iniciadores degenerados PGMY09/PGMY11.

4.4.7 - Amplificação do DNA viral

As amostras que foram positivas para a amplificação da β -globina, foram amplificadas, empregando-se os oligonucleotídeos PGMY09 e PGMY11, (Gravitt et al.2000), que amplificam uma região conservada de 450 pares de

bases do gene L1, de vários tipos de HPV. Os iniciadores PGMY09/PGM11 são degenerados em algumas posições. Assim, o anelamento é possível a mais de um tipo de nucleotídeo, durante a reação da PCR e, desta maneira, a amplificação de um grande espectro de HPV genitais.

Para 100 μ L da reação, utilizaram-se as seguintes concentrações finais de cada reagente: 200 μ M de dNTPs, 4mM MgCl₂, 0,4 μ M dos iniciadores PGMY9/PGMY11, 0,04 μ M GH20/PCO4 e 5U/ μ L Ampli Taq Gold (Roche, New Jersey, EUA) em tampão 1X (Tris-HCl 10mM, pH 8,4, KCl 50mM). O controle negativo de HPV da reação foi DNA da linhagem celular C33A (carcinoma de colo de útero HPV negativo). Os controles positivos usados foram: DNA de plasmídeo, contendo o genoma completo de HPV-16 e DNA da linhagem celular *HeLa*, que contém HPV-18 (Yee et al., 1985). Como controle negativo da reação, foi incluído um tubo com a mistura de reação, sem adicionar qualquer DNA.

Um ciclo inicial de 13 minutos, a 95°C, seguido de 40 ciclos, de 1 minuto a 95°C, 1 minuto a 55°C, e 1 minuto a 72°C. A seguir, um último passo de 5 minutos a 72°C.

Os produtos da PCR foram analisados por meio de eletroforese em gel, de agarose a 1% (1g de agarose para 100ml de BTE 1X: 5,5g de ácido bórico; 10,8g de Tris, 0,925g de EDTA em 1L de água destilada e deionizada). A eletroforese foi conduzida em tampão BTE 0,5X, a uma voltagem constante de 100V na fonte de tensão (modelo 250EX, Life Technologies, EUA). O marcador de peso molecular utilizado foi ϕ X174RF/*HaeIII*. O gel foi corado com brometo de etídio a 0,5%, para que

as bandas de aproximadamente, 450 pb fossem, posteriormente, visualizadas sob luz ultravioleta (Transilluminator GUM-20, Uniscience Syngene, EUA) e fotografada com máquina Polaroid (FB-PDC-34, Fishher Biotech, Pittusburgh, EUA) utilizando o filme Polaroid 667-película instantânea em branco e preto.

4.4.8 - Tipagem do papilomavírus humano

A determinação dos tipos de HPV, presentes nas amostras clínicas, foi feita por hibridização em pontos (dot blot) e/ou análise de polimorfismo do tamanho dos fragmentos de restrição (RFLP) (Bernard et al., 1994).

4.4.8.1 - Hibridização em pontos (“DOT BLOT”)

Os produtos amplificados por PCR, com os iniciadores PGMY09 /PGMY11 e GH20/PCO4, foram submetidos ao procedimento de tipagem dos vírus, utilizando-se o método de hibridização em pontos.

A técnica utilizada baseou-se na descrição de Manos e colaboradores. (1989), com algumas modificações. Empregaram-se como sondas, oligonucleotídeos específicos para a região amplificada, marcados radioativamente com P^{32} , por uma reação com a T4 polinucleotídeo quinase. Um conjunto de cerca de 28 oligonucleotídeos tipo-específicos foi utilizado nas hibridizações, além de uma sonda genérica, que consiste de uma mistura de produtos de 4 PCR para HPV, dos tipos 16, 18, 31 e 51, que foi

capaz de hibridizar com todos os tipos de HPV genitais (Bauer et al., 1993; Hildesheim et al., 1994; Manos et al., 1989). Submeteu-se à hibridização, tanto as amostras positivas, como negativas, por PCR, uma vez que é possível que amostras negativas se revelem positivas, apenas após a hibridização, já que esta última, seguida de auto-radiografia, é mais sensível que a simples detecção de bandas no gel de agarose. Sondas específicas foram empregadas para os seguintes tipos de HPV: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 66, 68, 73, 82, 83, 84 e PCO3 isoladas ou misturados. Os produtos da PCR foram diluídos 10 vezes em uma solução desnaturante de NaOH 1,6N, EDTA 0,1M, e a mistura, pipetada sobre uma membrana de náilon Hybond-N⁺ (Amersham, Inglaterra), ajustada a uma placa de acrílico (Hybri-dot Manifold, Life technologies, EUA), acoplada a um sistema de vácuo. A membrana foi marcada com um lápis especial previamente, removida e colocada sobre um papel de filtro, para secagem e identificação das posições das amostras. Em seguida, o DNA foi fixado, pela exposição das membranas à luz ultravioleta no aparelho (Cross-linker, Hoefer, UVC500, San Francisco, EUA), por 20 segundos. As membranas foram umedecidas em solução 2X SSC (0,3M citrato de sódio e 3M NaCl (20X) e submetidas à pré-hibridização, em cilindros de vidro, contendo a solução 6X SSC, 10x Denhardt's (0,5% de SDS e 100µg/ml de esperma de salmão desnaturado), e incubadas no forno de hibridização (Labnet, EUA), a 55°C, durante 3 horas. Após essa incubação, procedeu-se a hibridização, adicionando-se as sondas radioativas à mesma solução anterior, e incubadas, novamente, à mesma temperatura, por 12 a 24

horas. Após esse período, as membranas foram removidas do cilindro e lavadas com solução 2x SSC, 0,1% de SDS, à temperatura ambiente, por duas vezes, 15 minutos cada, seguidas de mais duas lavagens, a 56°C, por 30 minutos, com a mesma solução. No final, as membranas foram expostas a filmes de raios-X, por 18 a 36 horas, a -70°C, e, em seguida, feita a revelação. Juntamente com os controles positivos, para os diferentes tipos de HPV, provenientes da amplificação do plasmídeo, nos quais estão clonados os genomas inteiros de diversos tipos de HPV e de casos clínicos com resultado prévio de HPV, controles negativos provenientes da PCR PGMY09/11 e GH20/PCO4, sem DNA, também foram adicionados. O filme foi avaliado, após a revelação, nas marcas especificadas para os sinais obtidos das sondas, recebendo uma demarcação vertical, com letras de “A até H”, e uma horizontal, cuja numeração foi de “1 a 12”. As amostras que não produziram sinais no filme foram consideradas negativas. Perfil da PCR de HPV em gel de poliacrilamida.

As amostras positivas para HPV pela PCR, porém, negativas na hibridização em pontos, ou que possuíam resultado duvidoso, foram tipadas, baseadas em RFLP dos genomas de HPV e por hibridização reversa em tiras (Roche, molecular diagnostics, EUA).

4.4.8.2 - Tipagem dos produtos da PCR por RFLP

A RFLP foi realizada a partir do produto amplificado pelos iniciadores genéricos PGMY09/11, o que permitiu diferenciar 43 tipos de HPV, através

do padrão de fragmentos gerados, após digestão com sete enzimas de restrição (Bernard et al., 1994). Para esta análise, a reação da PCR foi feita nas seguintes condições (10x tampão, dNTPs, MgCl₂): apenas com os iniciadores PGMY09/11, em um volume final de 100µl, conforme descrito anteriormente, sem o iniciador da globina humana. As diferentes enzimas de restrição utilizadas foram: *BamHI*, *DdeI*, *HaeIII*, *HinfI*, *PstI*, *RsaI* e *Sau3AI*. Um tubo, contendo apenas o tampão da enzima e o produto da PCR foi utilizado como controle negativo de digestão. Os produtos de digestão foram analisados em géis de poliacrilamida 8%, corados com nitrato de prata (Sanguinetti et al., 1994) e comparados aos mapas de restrição, já caracterizados, dos diferentes tipos de HPV (Bernard et al., 1994). O marcador de peso molecular ØX174RF/*HaeIII* foi aplicado em cada gel.

4.4.8.3 - Tipagem por hibridização reversa “line blot”

4.4.8.3.1- PCR para amplificação das amostras a serem tipadas pelas tiras Roche

As amostras foram amplificadas com os iniciadores PGMY09/PGMY11 biotinizados, que amplificam um fragmento de 450pb da região L1 ORF de HPVs e BGH20/BPCO4, também biotinizados, que amplificam um fragmento de 268pb do gene da b-globina humana (Roche Molecular Diagnostics, Alameda, CA).

Para 50 ml da reação, utilizou-se a seguinte quantidade final de cada reagente: 30,15ml de H₂O, 5,0µl de 10X buffer, 1,0 µl de dNTPs(10mM de:

dATP, dCTP, dGTP; e 30mM de dUTP), 8,0 µL de MgCl₂, (25mM), 1,0µl de PGMY 09 50µM, 1,0 µl de PGMY 11 50 µM, 0,05 µl de BGH20 50 µM, 0,05 µl BPCO4 50 mM, 0,75 µl AmpliTaq Gold 5U/µl, 3,0 µl DNA.

O processo envolveu um ciclo inicial, de 9 minutos, a 95°C, seguido de 40 ciclos de 30 segundos a 95°C, 1 minuto a 55°C, e 1 minuto a 72°C, e seguido de um último ciclo de 5 minutos a 72°C, para a extensão final e, em seguida, a 4°C.

4.4.8.3.2 - Análise do produto amplificado

Foram aplicados 5ml do produto em gel de agarose 1%, para verificar se havia ocorrido amplificação. As soluções de hibridização (4x SSPE em 0,5% de SDS) e de lavagem (1X SSPE em 0,1% de SDS) foram aquecidas, a 53°C. As amostras foram desnaturadas, adicionando-se, em uma microplaca, 40ml da solução desnaturante e 40ml do produto amplificado. Logo após, foi deixada em repouso à temperatura ambiente por 10 minutos. As tiras, previamente identificadas, foram acondicionadas em cada canaleta, em uma bandeja apropriada, em que foram acrescentadas 3ml de solução de hibridização, a 53°C. Em seguida, 75ml do produto da PCR, já desnaturados, foram adicionados em cada canaleta, contendo as tiras, em que cada tira correspondeu a uma amostra. As tiras na bandeja foram incubadas em banho-maria, a 53°C, sob agitação por 40 minutos. Após esse tempo, a solução de hibridização foi removida, por aspiração a vácuo. À temperatura ambiente, 3ml da solução de lavagem foram adicionadas, sob

agitação, e em seguida, desprezada a solução. Foram adicionadas 3ml da solução de lavagem e incubadas em banho-maria, a 53°C, sob agitação por 15 minutos. A solução de lavagem foi removida, por aspiração a vácuo. Em seguida, foram adicionados 3ml de conjugado (33µl streptavidina-peroxidase e 100ml solução de lavagem) e deixadas à temperatura ambiente, sob agitação por 30 minutos. O conjugado foi removido e lavado, rapidamente, com 3ml de solução de lavagem, à temperatura ambiente. A solução de lavagem foi removida e adicionada mais 3ml de solução de lavagem, deixando, sob agitação, por mais 10 minutos, em temperatura ambiente. Repetiu-se mais uma vez a lavagem, por 10 minutos. Adicionaram-se 3ml de citrato de sódio 1X concentrado e deixado, sob agitação, por 15 minutos, à temperatura ambiente. Em seguida, o citrato foi aspirado e adicionado 3ml da solução de revelação (150ml de citrato de sódio 0,1M, 7,5ml de 1X TMB (3,3',5,5'tetrametilbenzidina) e 15ml de H₂O₂ 30%), à temperatura ambiente, sob agitação por 10 minutos no mínimo. A bandeja foi coberta, para evitar que a solução reveladora entrasse em contato com a luz. Após esse tempo, as bandas tornaram-se visíveis. Foi aspirada a solução reveladora e lavada com água destilada para remover o excesso de revelador. Colocaram-se 3ml de citrato de sódio 1X concentrado, para cada tira. A identificação dos diferentes tipos de HPV foi feita, mediante a leitura das linhas azuis, que apareceram nas tiras, as quais foram comparadas com o padrão de tipos de HPV (linhas de referência), fornecido pelo fabricante.

5-Análise estatística

O tipo de amostra, utilizado pelo estudo, foi não probabilística. Utilizou-se o programa “Epi-Info”, versão 6.04; CDC, Atlanta, GA, para informatização dos dados e análise estatística. A análise foi realizada por meio de freqüências simples. A análise de significância foi realizada por meio do cálculo determinados das razões de chance ou “Odds ratio” (OR), corrigido com testes Yates, com intervalo de confiança de 95%, foi derivada dos modelos proporções de risco de Cox, usando “software” “Epi-Info”. Para o estudo optou-se por considerar como associações significativas $p \leq 0,05$.

6 – Resultados

O Centro de Referência e Treinamento de DST/AIDS do Programa Estadual de DST/AIDS do Estado de São Paulo possui um ambulatório de DST, que atende casos índices e seus parceiros sexuais. Conta, também, com um ambulatório da Especialidade, que atende casos de urologia geral para os pacientes com HIV/Aids. No período de recrutamento, os dois núcleos do ambulatório atenderam aproximadamente 1200 pacientes.

O estudo envolveu 144 homens adultos, que procuraram o ambulatório. Desses, 72/144 (50%) foram oriundos do ambulatório de DST e que, ao serem testados para HIV, apresentaram resultado negativo (grupo HIV negativo). Os outros 72 homens foram provenientes do ambulatório da Especialidade de Urologia, do mesmo centro, e que atende portadores do HIV/AIDS, com queixas variadas, constituindo o grupo HIV positivo.

6.1 - Características demográficas e sociais

No que diz respeito a algumas características demográficas e sociais da população estudada, os seguintes resultados, para cada um dos grupos considerados são apresentados na **Tabela 1**:

Faixa etária:

No grupo HIV negativo, 57% (41/72) de seus integrantes situaram-se na faixa etária de 18 a 29 anos. Já no grupo HIV positivo, a maior proporção 65% (47/72), estavam na faixa etária maior de 40 anos.

Estado marital:

No grupo HIV positivo, a situação mais freqüente foi a correspondente à categoria de não morar junto, com 75% (54/72) dos casos. No grupo HIV negativo, 50% (36/72) moravam juntos.

Raça/cor:

No grupo HIV positivo, 64% (46/72) se autodenominaram de raça/cor branca e no grupo HIV negativo, 57% (41/72), como não brancos.

Escolaridade:

No grupo HIV negativo, 50% (36/72) dos participantes incluídos neste estudo completou o segundo grau, seguido de 40% (29/72) que completou o primeiro grau. Entre os HIV positivos, a maioria dos casos relatou ter primeiro ou segundo grau, com freqüência de 39% (28/72) em cada categoria. Em ambos os grupos, predominaram a presença de participantes com até o segundo grau.

Renda familiar:

Em relação à renda familiar, a situação foi similar no grupo HIV positivo e negativo, encontrando-se a maior freqüência, 67% (48/72) e 74% (53/72), respectivamente, na faixa de renda de até 4 salários mínimos.

Tabela 1. Distribuição do número e porcentagem dos casos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com as características sócio-demográficas

| Características | HIV positivo n=72 (%) | HIV negativo n =72(%) | OR (IC 95%) |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Idade | | | |
| 18-29 | 6 (8) | 41(57) | 45(12,65-181,35) p<0.000 |
| 30-39 | 19 (26) | 24 (33) | 8,48(2,85-26,19) p<0.000 |
| >40 | 47 (65) | 7 (10) | 1 |
| Média em anos (DP) | 42,7±9,6 | 30,2±9,3 | |
| Estado marital | | | |
| Mora junto | 17 (24) | 36 (50) | 3,18(1,47-6,93) p=0,002 |
| Não mora junto. | 54 (75) | 36 (50) | 1 |
| Ignorado | 1(1) | - | |
| Raça/cor | | | |
| Branca | 46 (64) | 31 (43) | 1 |
| Não-Branca | 26 (36) | 41 (57) | 2,34(1,14-4,84) p=0,019 |
| Escolaridade | | | |
| Primeiro grau | 28 (39) | 29 (40) | 1 |
| Segundo grau | 28 (39) | 36 (50) | 1,24(0,57-2,71) p=0,683 |
| Universitário | 16 (22) | 7 (10) | 0,42(0,13-1,31) p=0,157 |
| Renda salarial (salário mínimo)* | | | |
| 0-4 | 48 (67) | 53 (74) | 1 |
| >5 | 19 (26) | 38 (53) | 1,81(0,88-3,77) p=0,117 |
| outros | 5 (7) | 6 (8) | |

*(Em unidade de salário mínimo, correspondendo a R\$300,00 em novembro, 2005).

OR Odds rates

IC Intervalo de confiança de 95%

6.2- Características de comportamento sexual (Tabela 2).

Parceria sexual:

No grupo HIV positivo, observou-se uma frequência maior de HSH (homem que faz sexo com homem) – 58% (42/72), enquanto, no grupo HIV negativo, predominou a categoria HSM (homem que faz sexo com mulher), com 89% (64/72).

Idade do início da atividade sexual:

Nos grupos HIV positivo e negativo observaram-se freqüências semelhantes, 71% (51/72) e 69% (50/72), respectivamente, de homens com início da atividade sexual com a idade menor de 16 anos.

Número de parceria sexual na vida:

O grupo HIV positivo apresentou maior freqüência, 93% (67/72), de homens com mais de 11 parcerias sexuais durante toda a vida, do que o grupo HIV negativo, em que esse número de parcerias esteve presente em 60% (43/72) de seus integrantes.

Número de parceria sexual no último ano:

Nos grupos HIV positivo e negativo observaram-se freqüências semelhantes, 46% (33/72) e 51% (37/72), respectivamente, de homens com dois a dez parcerias sexuais no último ano.

Antecedente de DST:

Conforme é apresentado na **Tabela 2**, o grupo HIV positivo foi o que mais referiu histórico de DST, 90% (65/72), enquanto, no grupo HIV negativo, essa proporção correspondeu apenas 49% (35/72) de seus integrantes.

Antecedente de tabagismo:

O grupo HIV positivo referiu 61% (44/72) serem tabagistas, enquanto, entre os HIV negativos, essa proporção foi de 39% (28/72).

Tabela 2. Distribuição do número e porcentagem dos casos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com as características do comportamento sexual e antecedente de DST e tabagismo

| | HIV Positivo n=72 (%) | HIV Negativo n=72 (%) | OR (IC 95%) |
|--|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| Parceria sexual | | | |
| HSM ² | 24 (33) | 64 (89) | 1 |
| HSH ¹ | 42 (58) | 3 (4) | 0,03(0,01-0,1) p<0,000 |
| Ambos | 6 (8) | 5 (7) | 0,31(0,07-1,3) p=0,084 |
| Idade do início da atividade sexual | | | |
| ≤16 | 51 (71) | 50 (69) | 1 |
| ≥17 | 21 (29) | 22 (31) | 1,07(0,49-2,32) p=1,0 |
| Número de parceria sexual na vida | | | |
| ≤10 | 5 (7) | 29 (40) | 1 |
| ≥11 | 67 (93) | 43 (60) | 0,11(0,03-0,33) p<0,000 |
| Número de parceria sexual no último ano | | | |
| 0-1 | 28 (39) | 31(43) | 1 |
| 2-10 | 33 (46) | 37 (51) | 1,01(0,48-2,15) p=0,888 |
| ≥11 | 11 (15) | 4 (6) | 0,33(0,08-1,3) p=0,132 |
| DST | | | |
| Sim | 65 (90) | 35 (49) | 1 |
| Não | 7 (10) | 37 (51) | 9,8(3,7-27,1) p<0,000 |
| Tabagismo | | | |
| Sim | 44 (61) | 28 (39) | 1 |
| Não | 28(39) | 44 (61) | 2,47(1,2-5,11) p=0,012 |

¹Homen que faz sexo com homem.

²Homen que faz sexo com mulher.

6.3- Uso de preservativo e práticas sexuais:

No grupo HIV positivo, 69% (29/42) responderam que usam preservativo com parceria fixa. Já nos HIV negativos, apenas 13% (8/61) referiram usar preservativo nessa mesma situação (**Tabela 3**).

No caso de parceria eventual, no grupo HIV positivo, 78% (43/55) relataram que usavam preservativos, enquanto que o grupo HIV negativo apresentou a proporção de 44% (27/61) (**Tabela 3**).

Procurando verificar se o uso do preservativo masculino iria variar segundo diferentes práticas sexuais em ambos os grupos considerados, a partir das respostas dos participantes do estudo, obtivemos os seguintes resultados apresentados na **tabela 4**:

1. na prática de sexo vaginal, 67% (20/30) do grupo HIV positivo sempre usa preservativo, enquanto que, no grupo HIV negativo, 61% (42/69) responderam que, às vezes, usam preservativo nessa prática;

2. na prática de sexo anal ativo, os grupos HIV positivo e negativo relataram o uso de preservativo, sempre, na proporção de 79% (45/57) e 51% (18/35), respectivamente;

3. na prática anal passivo, o grupo HIV positivo foi o que apresentou maior proporção daqueles que sempre usam o preservativo, 74% (28/38), enquanto essa proporção, no grupo HIV negativo, foi de apenas 50% (2/4) dos casos;

4. na prática de sexo oral ativo, observaram-se comportamentos semelhantes nos grupos HIV positivo e negativo, 74% (42/57) e 86% (48/56), respectivamente, de homens que relataram que nunca usam preservativo nesse tipo de prática;

5. na prática de sexo oral passivo, da mesma forma que no caso anterior, os grupos HIV positivo e negativo apresentaram comportamentos semelhantes, 57% (37/65) e 72% (47/65), respectivamente, de homens que relataram que nunca usam preservativo nessa situação.

Tabela 3. Distribuição do número e porcentagem dos casos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com o tipo de parceria sexual e do uso de preservativos masculino

| Uso de preservativo | HIV positivo n (%) | HIV negativo n (%) | OR (IC 95%) p |
|--------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|
| Parceiro fixo | | | |
| Sempre | 29 (69) | 8 (13) | 1 |
| Às vezes | 11(26) | 26 (43) | 8,57 (2,67-28,63) p<0,000 |
| Nunca | 2 (5) | 27 (44) | 48,94 (8,33-379) p<0,000 |
| Total | 42(100) | 61(100) | |
| Parceiro eventual | | | |
| Sempre | 43 (78) | 27 (44) | 1 |
| Às vezes | 11 (20) | 16 (26) | 2,32 (0,86-6,34) p=0,107 |
| Nunca | 1 (2) | 5 (8) ^d | 7,96 (0,82-190,27) p=0,077 |
| Total | 55(100) | 61(100) | |

Tabela 4. Distribuição do número e porcentagem dos casos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com as características do uso de preservativos masculino com as práticas sexuais

| Uso de preservativo Com as práticas | HIV positivo N (%) | HIV negativo N (%) | OR (IC 95%) |
|--|-----------------------|-----------------------|---------------------------|
| Vaginal | | | |
| Sempre | 20 (67) | 14 (20) | 1 |
| Às vezes | 10 (33) | 42 (61) | 6 (2,06-17,95) p<0,000 |
| Nunca | - | 13 (19) | |
| Total | 30(100) | 69(100) | |
| Anal ativo | | | |
| Sempre | 45 (79) | 18 (51) | 1 |
| Às vezes | 10 (18) | 9 (26) | 2,25 (0,69-7,33) p=0,211 |
| Nunca | 2 (3) | 8 (23) | 10(1,70-76,18) p=0,003 |
| Total | 57(100) | 35(100) | |
| Anal passivo | | | |
| Sempre | 28 (74) | 2 (50) | 1 |
| Às vezes | 8 (21) | 2 (50) | 3,5 (0,29-43,82) p=0,255 |
| Nunca | 2 (5) | - | |
| Total | 38(100) | 4(100) | |
| Oral ativo | | | |
| Sempre | 5(9) | 1(2) | 1 |
| Às vezes | 10 (17) | 7(12) | 3,50 (0,26-98,27) p=0,368 |
| Nunca | 42 (74) | 48 (86) | 5,71(0,61-134,58) p=0,108 |
| Total | 57(100) | 56(100) | |
| Oral passivo | | | |
| Sempre | 11 (17) | 2 (3) | 1 |
| Às vezes | 17 (26) | 16 (25) | 5,18 (0,85-40,1) p=0,083 |
| Nunca | 37 (57) | 47 (72) | 6,99 (1,33-48,83) p=0,015 |
| Total | 65(100) | 65(100) | |

6.4 - Característica ao exame físico.

Exame físico: Tabela 5.

Ao exame físico, observou-se a existência de circuncisão em 21% (15/72) dos integrantes do grupo HIV positivo. No grupo HIV negativo, por sua vez, a circuncisão foi observada em apenas 10% (7/72) de seus participantes.

No que se refere a lesões, o grupo HIV positivo não apresentou lesão clínica no pênis em 58% (42/72) dos casos. Por outro lado, entre os HIV negativos, 33% (24/72) de seus integrantes não apresentaram lesões no pênis.

Peniscopia:

Os grupos HIV positivo e negativo apresentaram freqüências de 36% (26/72) e 44% (32/72) respectivamente, quanto à presença de lesão acetobranca detectada por meio da peniscopia.

Tabela 5. Distribuição do número e porcentagem dos casos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com a presença de circuncisão, lesão peniana e lesão acetobranca na peniscopia

| Presença de Circuncisão | HIV positivo n=72 (%) | HIV negativo n=72(%) | OR (IC 95%) |
|--------------------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Sim | 15 (21) | 7 (10) | 1 |
| Não | 57 (79) | 65 (90) | 2,44(0,86-7,18) p=0,104 |
| Presença de lesão peniana | | | |
| Sim | 30 (42) | 48 (67) | 1 |
| Não | 42 (58) | 24 (33) | 0,36(0,17-0,74) p=0,004 |
| Presença de lesão acetobranca | | | |
| Sim | 26 (36) | 32 (44) | 1 |
| Não | 46 (64) | 40 (56) | 0,71(0,34-1,46) p=0,395 |

6.5.- Resultados Sorológicos de HCV, HBV e Sífilis (VDRL) tabela 6.

O grupo HIV positivo teve soropositividade em 13% para HCV, 62% para HBV e 24% para o VDRL, e o grupo HIV negativo teve 1%, 9% e nenhuma, respectivamente.

Tabela 6. Distribuição dos casos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com os resultados sorológicos de HCV, HBV e Sífilis (VDRL)

| | HIV positivo n(%) | HIV negativo n(%) | OR (IC 95%) |
|-----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------|
| Hepatite C | | | |
| Positivo | 9(13) | 1(1) | 1 |
| Negativo | 59(87) | 68(99) | 10,37 (1,28-224,99) p=0,008 |
| Total* | 68(100) | 69(100) | |
| Hepatite B | | | |
| Positivo | 42(62) | 6(9) | 1 |
| Negativo | 26(38) | 63(91) | 16,96 (5,96-50,83) p<0.000 |
| Total* | 68(100) | 69(100) | |
| Sífilis (VDRL) | | | |
| Reagente | 17(24) | - | |
| Não reagente | 53(76) | 69(100) | |
| Total* | 70(100) | 69(100) | |

*sujeitos que não realizaram as sorologias.

6.6. - Prevalência de HPV com as variáveis epidemiológicas.

Os grupos HIV positivo e negativo apresentaram de forma adequada (presença do gene da globina humana) no esfoliado peniano em 93% e 91%, respectivamente, **tabela 7a**. A prevalência de HPV na população HIV positiva foi de 59% (38/64) e no grupo HIV negativo foi de 67% (43/64) – **Tabela 7b**. Ao se correlacionar à prevalência de HPV e variáveis sócio-demográficas estudadas (**Tabela 8**), observou-se que, no grupo HIV positivo, houve interferência da faixa etária na prevalência de HPV, havendo um

percentual maior de positividade na faixa maior de 41 anos. As variáveis, como o estado marital, raça/cor auto-referida e nível educacional, não apresentaram interferência na prevalência de HPV nos grupos HIV positivo e negativo.

As variáveis, idade da primeira relação sexual, número de parceiros sexuais no último ano e uso de preservativos com parceiro sexual eventual, não apresentaram interferência na prevalência do HPV, nos dois grupos estudados (**Tabelas 9 e 10**). Entretanto, as variáveis parceiros sexuais, número de parceiros sexuais na vida, antecedentes de DST, tabagismo e uso de preservativo com parceiro sexual fixo no grupo HIV positivo, tiveram uma maior positividade de DNA de HPV e foram estatisticamente significante **Tabelas 9 e 10**.

Tabela 7a. Distribuição do número e porcentagem de acordo com esfoliado peniano adequado a PCR de HPV nos grupos HIV positivo e negativo

| | HIV positivo n (%) | HIV negativo n (%) | OR (IC 95%) |
|-------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|
| Adequado | 64/69 (93) | 64/70 (91) | 1,20 (0,30-4,82) p=0,98 |
| Inadequado | 5/69 (7) | 6/70 (9) | |
| Total* | 69 | 70 | |

*Foram perdidas 3 amostras no grupo HIV positivo e 2 amostras no grupo HIV negativo.

Tabela 7b. Distribuição do número e porcentagem de acordo com a positividade da PCR de HPV nos esfoliado peniano nos grupos HIV positivo e negativo

| PCR - HPV | HIV positivo n (%) | HIV negativo n (%) | OR (IC 95%) |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| Positivo | 38/64(59) | 43/64(67) | 0,71(0,33-1,56) p=0,46 |
| Negativo | 26/64(41) | 21/64(33) | |
| Total | 64(100) | 64(100) | |

Tabela 8. Distribuição do número e porcentagem dos casos HPV positivos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com variáveis socio-demográfica

| | HIV positivo n=38 (%) | HIV negativo n=43 (%) | OR (IC 95%) |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Idade | | | |
| 18-29 | 2 (5) | 28 (65) | 1 |
| 30-40 | 13 (34) | 11 (26) | 0,06 (0,01-0,36) p<0,000 |
| >41 | 23 (61) | 4 (9) | 0,01 (0,0-0,9) p<0,000 |
| Estado marital | | | |
| Não mora junto.* | 26(70) | 23 (70) | 1 |
| Mora junto | 11(30) | 20 (53) | 2,06 (0,74-5,77) p=0,191 |
| Raça/cor | | | |
| Branca | 21 (55) | 21 (49) | 1 |
| Não branca | 17 (45) | 22 (51) | 1,29 (0,49-3,41) p=0,722 |
| Nível educacional | | | |
| Primeiro Grau | 14 (37) | 17 (40) | 1 |
| Segundo Grau | 16 (42) | 20 (47) | 1,03 (0,35-3,02) p=0,851 |
| Universitário | 8 (21) | 6 (14) | 0,62 (0,14-2,62) p=0,673 |

*Um voluntário HIV positivo não respondeu.

Tabela 9 Distribuição do número e porcentagem dos casos HPV positivos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com variáveis do comportamento sexual e antecedente de DST e tabagismo

| | HIV positivo n=38 (%) | HIV negativo n=43 (%) | OR (IC 95%) |
|---|--------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| Parceria sexual | | | |
| HSH | 19(50) | 2(5) | 1 |
| HSM | 15(39) | 37(86) | 23,43 (4,37-166,87) p<0,000 |
| Ambos | 4(11) | 4(9) | 9,5 (0,95-121,1) p=0,033 |
| Idade da primeira relação sexual | | | |
| <16 anos | 27(71) | 30 (70) | 1 |
| >17 anos | 11(29) | 13 (30) | 1,06(0,37-3,08) p=0,906 |
| Nº de parceiros sexuais na vida | | | |
| ≤10 | 4(11) | 16(37) | 5,04(1,35-20,37) p=0,011 |
| ≥11 | 34(89) | 27(63) | 1 |
| Nº de parceiros no último ano | | | |
| 0↔1 | 15(39) | 16(37) | 1 |
| 2↔10 | 19(50) | 23(53) | 1,13(0,4-3,19) p=0,977 |
| ≥11 | 4(11) | 4(10) | 0,94(0,16-5,65) p=1 |
| DST | | | |
| Sim | 34 (89) | 21 (49) | 1 |
| Não | 4 (11) | 22 (51) | 8,9 (2,43-35,71) p<0,000 |
| Tabagismo | | | |
| Sim | 24 (63) | 14 (33) | 1 |
| Não | 14 (37) | 29 (67) | 3,55 (1,29-9,92) p=0,011 |

Tabela 10. Distribuição dos casos positivos para HPV, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com o tipo de parceria sexual e do uso de preservativos masculino

| Uso de preservativo | HIV positivo N (%) | HIV negativo N (%) | OR (IC 95%) |
|--------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|
| Parceiro fixo | | | |
| Sempre | 15(63) | 4 (11) | 1 |
| Às vezes | 8 (33) | 18 (50) | 8,44 (1,79-43,65) p=0,004 |
| Nunca | 1 (4) | 14 (39) | 52.5(4.41-1466.23) p<0.000 |
| Total | 24 | 36 | |
| Parceiro eventual | | | |
| Sempre | 21 (72) | 15 (47) | 1 |
| Às vezes | 8 (28) | 13 (41) | 2,28 (0,66-7,97) p=0,230 |
| Nunca | - | 4 (13) | |
| Total | 29 | 32 | |

6.6.1 – Achados no exame físico

O grupo HIV positivo apresentou a positividade de 18% (7/38) de HPV entre sujeitos com circuncisão. O grupo HIV negativo apresentou a prevalência de 7% (3/43) entre sujeitos com circuncisão (**Tabela 11**).

Os grupos HIV positivo e negativo apresentaram a prevalência de 55% (21/38) e 79% (34/43), respectivamente, de lesões penianas. Houve interferência nas prevalências nos dois grupos HIV, positivo e negativo, com OR 3,06 (1,04-9,13) p=0,04.

À presença de lesão aceto-branca, constatada por meio da peniscopia, os grupos HIV positivo e negativo apresentaram a prevalência de HPV de 47% (18/38) e 51% (22/43), respectivamente.

Tabela 11. Distribuição do número e porcentagem dos casos HPV positivos, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com a presença de circuncisão, de lesão peniana e lesão aceto-branca na peniscopia

| | HIV positivo n=38 (%) | HIV negativo n=43(%) | OR (IC 95%) |
|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Circuncisão | | | |
| Sim | 7(18) | 3 (7) | 1 |
| Não | 31 (82) | 40 (93) | 3,01(0,63-16,19) p=0,177 |
| Lesão peniana | | | |
| Não | 17 (45) | 9 (21) | 1 |
| Sim | 21 (55) | 34 (79) | 3,06(1,04-9,13) p=0,040 |
| Lesão acetobranca | | | |
| Sim | 18 (47) | 22 (51) | 1 |
| Não | 20 (53) | 21 (49) | 0,9(0,34-2,39) p=1,00 |

6.7 - Distribuição dos genótipos de HPV

A prevalência de múltiplos tipos de HPV foi maior no grupo HIV positivo (61% - 23/38) que no grupo HIV negativo (26% - 11/43), com OR 4,46 e p=0,003. **Tabela 12.** Em relação à distribuição dos genótipos oncogênicos e não-oncogênicos, a prevalência dos tipos oncogênicos de HPV no grupo HIV positivo (71% - 25/35) foi maior que no grupo HIV negativo (45% - 19/42), com OR 3,03 p=0,037 (**Tabela13**). Os tipos não-oncogênicos e oncogênicos mais freqüentes no grupo HIV positivo e negativo foram os HPV 6/11 e 16, respectivamente (**Tabela 14**).

Tabela 12. Distribuição do número e porcentagem dos casos de HPV detectado pela PCR nos esfregaços penianos, nos grupos HIV positivo e negativo segundo os genótipos

| Genótipos de HPV | HIV positivo n=38 (%) | HIV negativo n=43 (%) | OR (IC 95%) |
|------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Múltiplos | 23 (61) | 11 (26) | 1 |
| Único | 15 (39) | 32 (74) | 4,46 (1,57-12,91) p=0,003 |

Tabela 13. Distribuição do número e porcentagem dos casos de HPV detectado pela PCR nos esfregaços penianos, nos grupos HIV positivo e negativo segundo oncogenicidade

| Oncogenicidade do HPV | HIV positivo n (%) | HIV negativo n (%) | OR (IC 95%) |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| Oncogênicos | 25(71) | 19(45) | 1 |
| Não-oncogênico | 10(29) | 23(55) | 3,03(1,06-8,81)p=0,037 |
| Total* | 35(100) | 42(100) | |

*3 não foram identificados no grupo HIV positivo e 1 no grupo HIV negativo.

Tabela 14. Frequência dos tipos de HPV nas amostras nos grupos HIV positivo e negativo

| Tipos de HPV | HIV positivo n=98 | HIV negativo n=54 |
|------------------|----------------------|----------------------|
| 6/11 | 11 | 14 |
| 84 | 9 | 6 |
| 16 | 7 | 5 |
| 6 | 4 | 9 |
| 18 | 5 | 1 |
| 51 | 2 | 5 |
| 52 | 5 | 1 |
| 33 | 4 | - |
| 40 | 4 | - |
| 55 | 4 | - |
| 73 | 4 | 1 |
| 31 | 3 | - |
| 35 | 3 | - |
| 39 | 1 | 3 |
| 42 | 3 | - |
| 56 | 3 | 1 |
| 58 | 3 | 1 |
| 26 | - | 2 |
| 62 | 2 | - |
| 66 | 2 | 1 |
| 68 | 2 | - |
| 81 | 2 | - |
| 82 | 2 | - |
| 11 | 1 | - |
| 39 | 1 | - |
| 53 | 1 | 1 |
| 54 | 1 | - |
| 61 | 1 | - |
| 70 | 1 | - |
| 71 | 1 | - |
| 72 | 1 | - |
| 83 | 1 | 1 |
| 89 | 1 | 1 |
| Não identificado | 3 | 1 |

6.8. - Prevalência de HPV com os resultados laboratoriais

A prevalência de HPV no grupo HIV positivo com contagem de linfócitos T CD4 menor ou igual a 200 células/ml foi de 32% (12/38), enquanto naqueles com linfócitos T CD4 maior 200 células/ml foi de 68% (26/38) com OR 5,31 e $p=0,05$ (**Tabela 15**). A carga viral do HIV menor que 1000 cópias apresentou prevalência de 61% com OR 0,38 e $p=0,1$.

Na **Tabela 16**, o grupo HIV positivo apresentou maior prevalência (58%) naqueles homens com positividade para hepatite B em relação ao grupo HIV negativo (prevalência de 7%).

Tabela 15. Distribuição dos casos positivos de HPV, pela PCR nos esfregaços penianos, no grupo HIV positivo de acordo com níveis de linfócitos T CD4 e carga viral do HIV

| Resultados de CD4 e carga viral | n | OR (IC 95%) |
|---------------------------------|---------|----------------------------|
| Linfócitos T CD4 | | |
| ≤200 | 12 (32) | 1 |
| >200 | 26 (68) | 5,31(0,96-38,52) $p=0,058$ |
| Carga viral do HIV | | |
| ≤1000 | 23 (61) | 1 |
| >1000 | 15(39) | 0,38(0,1-1,41) $p=0,177$ |

Tabela 16. Distribuição dos casos positivos para HPV, nos grupos HIV positivo e negativo, de acordo com os resultados sorológicos de HCV, HBV e Sífilis (VDRL)

| | HIV positivo n=36 (%) | HIV negativo n = 41(%) | OR (IC 95%) |
|----------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Hepatite C^a | | | |
| Positivo | 7(19) | - | |
| Negativo | 29(81) | 41(100) | |
| Hepatite B^b | | | |
| Positivo | 21(58) | 3(7) | 1 |
| Negativo | 15(42) | 38(93) | 17,73(4,10-88,4) p<0,000 |
| Sífilis(VDRL)^c | | | |
| Reagente | 10(27) | - | |
| Não reagente | 27(73) | 41(100) | |

^a dois sujeitos que não realizaram as sorologias nos dois grupos.

^b dois sujeitos que não realizaram as sorologias nos dois grupos.

^c um sujeito, no grupo HIV positivo e dois no grupo HIV negativo que não realizaram as sorologias.

7. Discussão

Notamos que os grupos estudados, homens HIV positivos e HIV negativos, apresentaram resultados similares, no que dizem respeito às variáveis: raça, escolaridade e renda. Entretanto, o grupo HIV positivo ficou caracterizado, em sua composição, como aquele constituído por homens com idade mais avançada e que moram sozinhos, quase que exclusivamente, homo/bissexuais. Por outro lado, o grupo negativo para o HIV foi, predominantemente, constituído de heterossexuais, mais jovens - faixa etária do 20 a 30 anos, cuja parceira sexual foi positiva para HPV, na maioria das vezes.

Em geral, a positividade para o HPV nos dois grupos estudados foi semelhantes 59 e 67% para pacientes HIV positivo e negativo, respectivamente. Isto pode demonstrar que o HPV possui uma elevada capacidade de transmissão, independentemente do tipo de prática sexual.

Alguns autores encontraram uma prevalência do DNA do HPV entre homens saudáveis, em torno de 16%, na Finlândia (Hippeläniemi et al, 1993), 35% em Seattle, EUA (Weaver et al, 2004), 49% e 45% no México (Lazcano-Ponce et al., 2001 e Lajous et al., 2005), 34% na Dinamarca (Kjaer et al., 2005) e 8,7% em Busan, Coréia do Sul (Shin et al., 2004). Prevalência mais elevada (63% a 84%) entre homens que freqüentavam clínicas de doença sexualmente transmissível (Wikstrom et al., 1992; Law et al., 1991; Mandal et al., 1991). Recentemente, a prevalência variou de 13% a 45% entre homens atendidos em clínicas de DST, em diferentes países (Baldwin et al., 2003, Svare et al., 2002 e Wikstrom et al., 2000). A alta prevalência de

HPV, identificada em nosso estudo, provavelmente, deve-se ao fato do grupo HIV negativo ter sido constituído, em sua maioria, de parceiros de mulheres portadoras de infecção pelo HPV. A esse respeito, alguns trabalhos realizados com parceiros de mulheres com infecção pelo HPV demonstraram também prevalência elevada como foi encontrado por Nicolau e colaboradores (2005), que constataram uma prevalência de 70% de HPV em 50 homens brasileiros e Bleeker e colaboradores em 2005, demonstraram a prevalência de 73% de HPV nos esfregaços penianos de 238 casais em Amsterdam. Um estudo realizado em homens provenientes de ambulatório de DST e de parceiros de mulheres com lesões de HPV ou infectadas pelo HPV, de Caxias do Sul, Brasil, observou prevalência (53%) semelhante na população masculina, em relação à nossa (Rombaldi, 2004). Resultados de prevalência menor (13%) ao nosso foi encontrado por Rosemblat na sua tese de Doutorado, 2002, em parceiros de mulheres com NIC. Outros trabalhos com prevalências menores como de Franceschi e colaboradores, em 2002, revelaram uma prevalência de 21,5% entre esposos de mulheres com carcinoma "in situ" e 17,5%, entre aqueles de mulheres com carcinoma invasivo de colo do útero. Castellsagué e colaboradores (1997), estudando a prevalência do DNA do HPV no esfoliado de células penianas de maridos de mulheres com e sem neoplasia cervical, provenientes da Espanha e Colômbia, observaram que a prevalência do DNA do HPV foi alta em esposos de mulheres com neoplasias do colo do útero, comparadas ao grupo controle. A prevalência dos maridos controles da Colômbia foi de 19% e, da Espanha, foi de 3,5%. Devemos ressaltar que

a população proveniente da Espanha foi considerada pelos autores de baixo risco para a infecção pelo HPV, enquanto a da Colômbia, de alto risco.

No grupo HIV positivo, Van Der Snoek e colaboradores em 2003, encontraram resultado menor de prevalência (23,5%) do HPV no sulco coronal de 17 homens HIV positivos em relação ao nosso. A maioria dos estudos na população HIV positiva relaciona-se ao HPV anal, apresentando também prevalências elevada como mostram os estudos a seguir. Palefsky e colaboradores em 2005 encontraram 95% de infecção de HPV anal em 357 homens que fazem sexo com homem e Kreuter e colaboradores em 2005, encontraram 86% do DNA do HPV no ânus de 103 homens HIV positivo em uma coorte de HSH na Alemanha.

Tais variações de prevalência podem ser atribuídas, de acordo com dados da literatura, a diferenças no comportamento sexual e à distribuição da idade da população estudada, assim como à sensibilidade do método de detecção do HPV, à forma e local de coleta de material, e existência de áreas endêmicas, a tipos específicos de HPV.

No grupo HIV negativo observou-se que a faixa etária menor de 30 anos, sabidamente a que tem a maior atividade sexual, apresentou prevalência (65%) de HPV maior do que a encontrada na literatura. Baldwin e colaboradores em 2003 encontraram, na faixa de 18 a 24 anos de idade, a prevalência 34% de HPV. Lazcano-Ponce e colaboradores (2001), em homens saudáveis no México, verificaram a maior prevalência, de 50% de HPV, na faixa etária de 20 a 29 anos. Lajous e colaboradores (2005), estudando 1.030 homens

militares mexicanos, observaram a maior prevalência, de 48,6% de HPV, na faixa etária de 21 a 24 anos.

No grupo HIV positivo, nós observamos uma prevalência de HPV DNA positivo de 61% (23/38) entre homens acima de 40 anos de idade. Uma das possíveis explicações para esses achados poderia estar relacionada ao número mais elevado de parceiros, ao tempo maior de exposição ao HPV e à condição imunológica daqueles infectados pelo HIV. Dados da literatura demonstram que pacientes portadores de imunidade celular deprimida apresentam um risco maior de infecção pelo HPV, desde infecção e lesões pré-invasivas até invasivas da região anogenital (Hagensee et al. 2004; Scott et al. 2001; Dillner et al., 2000; Strickler et al., 2005). Portanto, a resposta imunológica inadequada poderia esclarecer a alta prevalência do HPV no grupo HIV positivo, como pode ser observada pela maior frequência, porém não significativa, no grupo com CD4 menor que 200 células/mm³. O que, também, foi observado, em pacientes com carga viral acima de 1000 cópias/ml, maior possibilidade da presença de HPV. Sun e colaboradores (1997), estudando mulheres HIV positivas em Nova York, encontraram, em aproximadamente dois anos de seguimento, 95% de positividade de HPV nas mulheres infectadas pelo HIV, com a contagem de células T CD4 inferior a 500/ mm³, e 74% entre aquelas com células T CD4 superior a 500. Entretanto, Moscicki e colaboradores (2000), ao estudarem a prevalência e o risco de infecção pelo HPV em meninas adolescentes HIV positivas e negativas, nos EUA, não encontraram associação estatisticamente significativa entre contagem de células T CD4 e carga viral de HIV com a

presença de HPV, mesmo diante de uma prevalência elevada de 77% entre adolescentes HIV positivas. Os autores mostraram-se surpresos com a falta de associação, referindo que o trabalho Langley e colaboradores (1996) também apresentaram resultados semelhantes. Assim, a função imune prejudicada pode não explicar inteiramente a alta prevalência do HPV na população co-infectada pelo HIV-1.

Quanto ao estado marital, não se observou associação estatisticamente significativa entre HPV DNA positivo, tanto no grupo HIV positivo como no HIV negativo. Os que “não moram juntos”, do grupo HIV negativo, apresentaram uma alta prevalência do DNA do HPV (70%), que foi semelhante que a do grupo HIV positivo (70%). Resultado menor foi encontrado por Baldwin e colaboradores (2004), que referiram a prevalência de 59% de HPV na categoria solteiro/divorciado/viúvo, em uma clínica de DST. Também Lajous e colaboradores (2005), entre militares solteiros mexicanos encontraram resultado com prevalência (48%) menor.

Com relação à variável raça dos pacientes envolvidos, no grupo HIV positivo, a presença do DNA do HPV foi de 55% na raça branca auto-referida. Entretanto, no grupo HIV negativo, foi 51% a presença do DNA do HPV na raça não branca. Apesar de ambos os grupos serem diferentes, não houve associação estatisticamente significativa entre a raça/cor e HPV, em ambos os grupos. Rombaldi (2004), em sua dissertação, ao desenvolver seu estudo com homens com lesão peniana e que procuraram o serviço de Urologia de Caxias do Sul, constatou uma maior presença do DNA do HPV

na raça branca, com 86%. Tal fato pode ser explicado pelas diferenças raciais, características daquela região do Brasil.

No que diz respeito ao estudo da variável nível de instrução, o primeiro grau apresentou a prevalência do DNA do HPV semelhante no grupo HIV positivo e negativo, 37% e 40%, respectivamente. Hippeläinen e colaboradores (1993), em estudo realizado na Finlândia, envolvendo 432 homens com DNA do HPV positivo, encontraram 40% para o nível educacional teórico e 60% para o nível vocacional. Castellsagué e colaboradores (2002), em estudo multicêntrico, envolvendo homens infectados pelo HPV, constataram 40% para o nível de ensino fundamental e 19,5% para o nível de instrução médio ou superior. Baldwin e colaboradores (2003), tendo como população de estudo, homens atendidos em clínica de DST, em Tucson, Arizona, EUA, infectados pelo DNA do HPV, constataram que 37,1% deles eram portadores de nível secundário. As prevalências encontradas em nosso estudo foram semelhantes se comparadas com as descritas acima. Isto poderia ser explicada, por se tratar de homens com menor grau de escolaridade em relação as DST e, sobretudo, ao HPV. Estes dados reforçam a necessidade de se introduzirem conteúdos de educação sexual e risco de DST nas grades curriculares do ensino fundamental.

Um outro fator, que poderia explicar a maior prevalência de HPV, encontrada em nosso estudo, seria a idade do início das relações sexuais. Nos grupos HIV positivo e negativo, a idade do início da atividade sexual foi com menos de 16 anos e apresentaram prevalência do DNA do HPV semelhantes, 71% e 70%, respectivamente. Dados da literatura com valores menores de

prevalência em relação ao nosso estudo foram encontrados nos estudos a seguir. Weaver e colaboradores (2004) observaram a prevalência de 33% do DNA do HPV nas amostras de homens, atendidos em uma clínica de DST, Seattle, EUA, com a média de idade da primeira relação sexual de 17,3 (11 a 24 anos). Castellsagué e colaboradores (2002), estudando homens circuncidados e não-circuncidados, constataram uma prevalência do DNA do HPV de 4% e 23%, respectivamente, naqueles em que a idade da primeira relação sexual foi com menos de 16 anos. Franceschi e colaboradores (2002), em esposos de mulheres que participaram em 7 estudos caso-controle, encontraram 20,4% de prevalência do DNA do HPV para idade da primeira relação menor ou igual 16 anos. Castellsagué e colaboradores (1997), estudando 816 homens, na Espanha e na Colômbia, relataram taxa de 15,4% e 21,5%, respectivamente, para a idade inferior a 15 anos, quando da primeira relação sexual.

Está bem estabelecido que o número de parceiros pode ser um dos fatores importantes para aquisição de DST (Gorbach et al. 2005). Franceschi e colaboradores (2002) referiram, em seu estudo, associação entre o DNA do HPV positivo e o número de parceiras sexuais durante toda a vida. Svare e colaboradores (2002) referiram que o risco de infecção pelo HPV aumenta com a elevação do número de parceiros durante a vida. Em nosso estudo, ficou evidenciado que o grupo HIV positivo apresenta maior risco de ter HPV, por se tratar de homens com número de parceria sexual maior de 11 durante toda a vida, do que o grupo HIV negativo. Estudos no Brasil (Eluf Neto, 1999) e em outros países revelaram que 12% dos homens não circuncidados e com cinco ou menos parceiras sexuais durante a vida, foram

positivos para o DNA do HPV. Castellsagué e colaboradores em 2002 notaram que entre aqueles, cujo número de parceiras durante a vida foi superior a cinco, houve um aumento para 45%. Van Der Snoek e colaboradores (2003) referiram, em um estudo transversal de HSH, uma prevalência do DNA do HPV que foi aumentando, de acordo com o aumento no número de parceiros sexuais durante a vida, com variação de 7%, 19%, 38% e 31%, porém, sem associação estatística. Este fato poderia explicar o resultado encontrado neste estudo, em que o grupo HIV positivo apresentou cinco vezes mais positividade do DNA do HPV do que no grupo HIV negativo, provavelmente, em função de seus integrantes terem tido um número elevado de parceiros durante a vida independente do gênero.

Svare e colaboradores (2002) referiram uma prevalência do DNA do HPV, com variação de 34%, 50%, 48% e 63%, que aumenta progressivamente, de acordo com o aumento do número de parceiras no último ano. Isso corrobora com o resultado encontrado em nosso estudo, porém não houve uma associação estatística significativa entre número de parceiros (as) no último ano e do DNA do HPV.

Em relação ao uso do preservativo masculino, Hippeläinen e colaboradores em 1993, Baldwin e colaboradores em 2004 e Bleeker e colaboradores em 2005 apontaram a importância do preservativo como fator de proteção na infecção pelo HPV. No nosso estudo, o grupo HIV positivo usou mais preservativos com parceira fixa e eventual do que o grupo HIV negativo. Franceschi e colaboradores em 2002 referiram que 37% dos homens, em diferentes países, usaram regularmente preservativo durante as relações

sexuais com prostitutas. No nosso estudo, o grupo HIV positivo apresentou prevalência maior de HPV que usou sempre preservativo com parceria fixa e eventual do que o grupo HIV negativo. Franceschi e colaboradores em 2002 estudando homens com HPV relataram que 21% sempre usaram preservativo com prostitutas. Castellsagué e colaboradores em 2002 estudando homens circuncidados e infectados pelo HPV, que sempre usou preservativo em 27%. Estes dois estudos encontraram resultados de prevalência menores do que no nosso estudo. Um aspecto importante do nosso estudo foi à observação relacionada ao uso de preservativo na prática do sexo oral. Ambos os grupos não usaram proteção nessa prática, principalmente o grupo HIV positivo com uma maior freqüência. Estes dados reforçam a necessidade de se introduzirem campanhas educativas e a realização de estudos epidemiológicos em saúde bucal.

O fumo pode ter participação direta, como mutagênico, ou por provocar imunodeficiência local (Villa, 1997). Barton e colaboradores (1988), estudando os espécimes de biópsia de mulheres submetidas a colposcopia, em uma clínica, em Londres, observaram que o tabagismo diminui significativamente a quantidade e funções das células de Langerhans, células apresentadoras de antígenos. No nosso estudo, houve uma associação significativa dos fumantes do grupo HIV positivo com a presença de HPV, em relação ao HIV negativo. Entretanto, Giuliano e colaboradores (2002) sugerem que o tabagismo promove os eventos iniciais para a carcinogênese do colo uterino, por diminuir a probabilidade de eliminar a infecção dos tipos oncogênicos. Esta observação reforça a afirmação de que o tabaco e a

imunidade local favorecem a infecção pelo HPV. Contrário ao nosso resultado, Franceschi e colaboradores (2002), em um estudo caso-controle, em diferentes países, não encontraram associação entre o hábito de fumar e a infecção pelo HPV.

Em relação à presença de co-infecção, notamos que o grupo infectado pelo HIV apresentou maior prevalência de HCV, HBV e sífilis, quando comparado com o grupo não infectado pelo HIV. Dados epidemiológicos recentes da cidade de Paulo indicaram que, em pacientes com DST, 8% apresentaram diagnóstico de sífilis, 4% de HIV, 6% HBV, 7% HCV enquanto que o HPV atingiu a proporção correspondente a 49% dos casos notificados (Boletim epidemiológico de 2005). Bernard e colaboradores em 1992 relataram que a participação de outras DST poderia representar um importante fator na progressão das lesões anogenitais de indivíduos convivendo com HIV/Aids.

Uma das dificuldades dos estudos em homens, mencionada na literatura, é a falta de padronização da coleta de células esfoliadas do pênis e a quantidade de material obtido, que é menor em comparação a coleta do colo do útero (Barrasso, 1992). Em nosso estudo, o método de coleta das células, proveniente do raspado peniano, foi fácil de ser realizado, não invasivo e aceitável pelos participantes. Foi considerado material adequado, quando havia a presença do gene da β -globina humana. Do total das 72 amostras de cada grupo, foram excluídos, três materiais de coleta no grupo HIV positivo e dois, no grupo não infectado pelo HIV, devido a acidentes O material da coleta, usando a escova, foi adequado em 93% no grupo HIV

positivo e 91% no grupo HIV negativo. Esse resultado foi semelhante aos relatados na literatura (Weaver et al., 2004; Baldwin et al., 2003; Lazcano-Ponce et al., 2001 e Castellsagué et al., 1997).

Ao examinarmos a região genital dos participantes do estudo, o grupo HIV positivo apresentou, três vezes mais risco de ter positividade para o DNA do HPV nas lesões clínicas quando comparado ao grupo HIV negativo. A prevalência do DNA do HPV (45%) foi maior no pênis sem lesão no grupo HIV positivo do que no grupo HIV negativo. Resultados semelhantes ao nosso como os de Schneider e colaboradores (1988), 58%, e Baldwin e colaboradores (2004), 46%. Resultados inferiores foram encontrados nos estudos a seguir. Van der Snoek e colaboradores (2003) encontraram a prevalência do DNA do HPV em 23,5% dos homens HIV positivo e 15,8% nos homens HIV negativo HSH. Mandal e colaboradores (1991), em seu estudo realizado em uma clínica urológica, em Manchester, Inglaterra, detectaram o DNA do HPV em 20% dos homens, utilizando a técnica de hibridização. Observamos que nosso estudo apresentou uma positividade elevada. Provavelmente, devido à forma da coleta, com utilização de escova.

Vários estudos tentam correlacionar a postectomia com um fator protetor para transmissão sexual de patógenos virais. Em nosso estudo, a prevalência do DNA do HPV foi menor nos homens com circuncisão em ambos os grupos em relação aos não circuncidados. Apesar do presente estudo não ter encontrado associação estatística entre circuncisão e a infecção de HPV, os participantes do grupo HIV positivo não circuncidados apresentaram três vezes mais presença do DNA do HPV do que no grupo

HIV negativo. Weaver e colaboradores (2004), estudando 258 homens circuncidados e 59 não circuncidados, universitários de Washington, EUA, encontraram prevalência de 33% e 31% de HPV, respectivamente. Svare e colaboradores (2002), estudando homens em uma clínica de DST, na Dinamarca, constataram a prevalência do DNA do HPV de 17% naqueles com circuncisão e 49% naqueles sem circuncisão. Há indicações que a circuncisão pode ser considerada um importante co-fator na história natural da infecção pelo HPV, pela influência na aquisição e transmissão do HPV, como DST e gênese do câncer do colo uterino. Castellsagué e colaboradores. (2002), estudando em diferentes países, inclusive, no Brasil 292 homens circuncidados e 847 sem circuncisão, encontraram percentuais de infecção pelo HPV de 5,5% e 19,6%, respectivamente. Também relataram associação entre circuncisão e risco reduzido de infecção genital pelo HPV, além de risco reduzido de câncer do colo uterino em mulheres de parceiros sexuais de alto risco (múltiplas parceiras) para HPV.

Um outro aspecto importante do nosso trabalho foi avaliar o uso da peniscopia, na prática clínica nas lesões acetobranca. Bergman e Nalick (1992) e Carvalho (1999) indicaram a técnica da peniscopia para homens de alto risco para a infecção pelo HPV, no pós-tratamento de lesões, e para parceiros sexuais de mulheres que apresentem lesões precursoras de câncer genital. No nosso estudo, a prevalência do DNA do HPV, nos grupos HIV positivo e negativo, foram semelhante, 47% e 51%, respectivamente, nas lesões acetobranca. Resultado inferior foi encontrado por Nicolau e colaboradores (2005), estudando 50 homens brasileiros, parceiros sexuais

de mulheres com infecção pelo HPV, diagnosticadas por captura híbrida, em que a positividade do DNA do HPV por biópsia, direcionada pela peniscopia, foi de 26%. A peniscopia é um método que tem elevado índice de resultados falso-positivos, relacionados ao aparecimento de lesões acetobranças secundárias a processos inflamatórios inespecíficos e infecciosos, bem como traumas pós-coito ou colheita de material citológico (Schultz et al., 1988 e Griffiths et al. 1991). Com relação à aplicação clínica de testes de biologia molecular para a detecção do DNA do HPV, sua utilização é recomendada pelo “Food and Drug Administration” (FDA) em mulheres com resultado citológico de células escamosas atípicas, de significado indeterminado (Cox et al., 1995). Nos homens, a sua aplicação ainda não foi, padronizada na detecção do DNA do HPV peniano.

Devido à possibilidade de múltiplas exposições, estudamos a possibilidade da presença de diversos tipos de HPV, em um mesmo pênis. Entre os participantes do grupo HIV positivo, a prevalência foi elevada (61%) da infecção por múltiplos tipos de HPV. Esse grupo teve quatro vezes mais infecções por múltiplos tipos de HPV, quando comparado ao grupo HIV negativo. O resultado observado neste estudo corrobora com os da literatura (Arany et al., 1998 e Brown et al., 1999), que ao estudarem o condiloma de pacientes imunodeprimidos, constataram infecção múltipla de HPV. Chin-Hong e colaboradores (2004) referiram infecção de múltiplos tipos de HPV em canal anal de homens, que fazem sexo com homens HIV positivo. Entre as mulheres, infecções múltiplas de HPV têm sido relatadas em alguns

estudos, sendo um fator de risco para a persistência ou neoplasia do colo uterino (Schiffman et al., 1993; Ho et al., 1998).

Um ponto importante, quando se refere à epidemiologia molecular, é a avaliação da distribuição de HPV dos tipos oncogênicos. Nesse particular, nosso estudo revelou dados interessantes. O grupo HIV positivo apresentou uma prevalência três vezes maior dos tipos oncogênicos, em comparação com grupo HIV negativo. Gomousa-Michael e colaboradores (2000) e Van Der Snoek e colaboradores (2003) referiram um desequilíbrio na distribuição do HPV, com a predominância dos tipos de alto risco oncogênico em homens infectados pelo HIV. Gomousa-Michael e colaboradores (2000) sugeriram que a imunodepressão estimula a infecção dos tipos oncogênicos, deste modo contribuindo para a frequência de lesões pré-malignas em homens HIV positivos. A prevalência de tipos de HPV não identificados foi elevada nos pacientes infectados pelo HIV, em comparação com o grupo de pessoas soronegativas para o HIV.

Os resultados deste estudo corroboram os dados encontrados na literatura, no que se refere à prevalência do DNA do HPV na população exposta, infectada ou não pelo HIV. Entretanto, dados discordantes são, provavelmente, oriundos da técnica de diagnóstico, forma de coleta, estágio clínico da infecção pelo HIV, entre outros. Nosso estudo demonstrou associação entre tabagismo e, mais importante, a presença de múltiplos tipos, principalmente os tipos oncogênicos (HPV 16) na população co-infectada. Isto é importante, pois determina, não somente a possibilidade da persistência viral, mas um risco aumentado de desenvolvimento de lesões clínicas e/ou

neoplásicas. Esses dados, como a maior diversidade do HPV, terão implicações para as práticas futuras de estratégias para o enfrentamento desta infecção na população infectada pelo HIV-1, em nosso meio.

8. Conclusões

A prevalência do DNA do HPV nos indivíduos infectados pelo HIV foi de 59% e no grupo HIV negativo foi de 67%.

Os tipos de HPV 6 e 11 foram os mais freqüentes nos dois grupos.

Os tipos de HPV de alto risco oncogênico (16/18) foram os mais freqüentes nos pacientes infectados pelo HIV. Os tipos de baixo risco oncogênico foram mais freqüentes nos indivíduos soronegativos para o HIV.

Pacientes infectados pelo HIV apresentaram múltiplos tipos de HPV, com maior freqüência do que naqueles não infectados pelo HIV.

No grupo HIV positivo, a prevalência do DNA do HPV foi significativamente mais elevada na faixa etária entre 30 e 40 anos. No grupo HIV negativo, a prevalência ocorreu entre 18 e 29 anos.

No grupo HIV positivo, a prevalência do DNA do HPV foi significativamente mais elevada no grupo HSH, naqueles com maior número de parceria sexual, com antecedente de DST, tabagismo e antecedente de HBV.

Os indivíduos com lesão peniana apresentaram maior positividade de HPV nos dois grupos.

Pacientes infectados pelo HIV apresentaram detecção de positividade de HPV nas lesões penianas com maior freqüência do que naqueles não infectados pelo HIV.

Os indivíduos circuncidados apresentaram menor prevalência de HPV nos dois grupos, porém essa diferença não atingiu significância estatística.

Os participantes, com e sem lesão acetobranca ao exame de peniscopia, apresentaram prevalência de HPV semelhantes em ambos os grupos.

Observou-se maior prevalência do DNA do HPV nos pacientes HIV positivos com a contagem de linfócitos T CD4 menor que 200 células/mm³, porém não atingiu significância estatística.

Observou-se maior prevalência do DNA do HPV nos pacientes HIV positivos com a carga viral plasmática do HIV menor que 1000 cópias, porém não atingiu significância estatística.

9. Anexos

1. Questionário sócio-demográfico

2. Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

PROJETO DE TESE DE MESTRADO HPV

I.1 Registro do prontuário:

Caso Nº _____

I.2 Data da Entrevista ___/___/___

I.3 Telefone () _____

I.4 CEP

IDENTIFICAÇÃO

I.5- Data de Nascimento: ___ / ___ / _____ I.6 Idade: _____

Local de Nascimento:

I.7 Cidade: _____ I. 8 Estado: _____ I.9 País: _____

I.10- Cor ou Raça: [1] Branco [2] Negro [3] Mulato [4] Amarelo [5] Outro [6] Não Responde

I.11- Escolaridade: [1] Nenhuma [2] 1/4 série [3] 5-8 série [4] 2º grau [5] Universitário

I.12- Qual é a sua renda: (salários mínimos):

[1] < 2 [2] 2 a 4 [3] 5 a 10 [4] > 10 [5] Não sabe [6] Não Responde.

I.13- Atualmente você é:

[1] casado [2] amigado [3] separado, desquitado ou divorciado

[4] viúvo [5] solteiro (nunca casou ou amigou) [6] Não Responde

*** Relações sexuais regulares no mínimo por seis meses, com ou sem contrato legal ou religioso, independente do fato de morar na mesma casa.**

I.14- Qual o motivo da consulta? [1] HPV [2] Não HPV _____

FATORES DE RISCO

F.1- Qual a sua idade quando teve relação sexual pela primeira vez? []

F.2- Quantos parceiros sexuais **homem** você teve na vida? []

F.3- Quantos parceiros sexuais **mulher** você teve na vida? []

F.4- Quantos parceiros sexuais **homem** teve no último ano? []

F.5- Quantos parceiros sexuais **mulher** teve no último ano? []

F.6- Você usa preservativo com parceira(o) fixo?

[1] sempre [2] as vezes [3] nunca [4] não tem parceiro fixo

F.7- Usa preservativo com parceiro eventual?

[1] sempre [2] as vezes [3] nunca [4] não tem parceiro eventual

F.8- Costuma ter relação sexual atualmente com: [1] homens [2] mulheres [3] ambos [4] ignorado

F.9- Tem relações vaginais?

[1] sim e sempre usa preservativo [2] às vezes usa [3]nunca usa [4]não tem relação

F.10- Tem relações anais como ativo?

[1] sim e sempre usa preservativo [2] às vezes usa [3]nunca usa [4]não tem relação

F.11- Tem relações anais como passivo?

[1] sim e sempre usa preservativo [2] às vezes usa [3]nunca usa [4]não tem relação

F.12- Tem relação oral como ativo?

[1] sim e sempre usa preservativo [2] às vezes usa [3]nunca usa [4]não tem relação

F.13- Tem relação oral como passivo?

[1] sim e sempre usa preservativo [2] às vezes usa [3]nunca usa [4]não tem relação

ANTECEDENTES

A.1- Você fuma, ou alguma vez fumou ? [1] Sim [2] Não

Se interrompeu há menos de um ano considerar como fumante atual.

Se não, passar para a questão A.6.

A.2- Qual a sua idade quando começou a fumar regularmente? []

A.3- Em média, quantos cigarros por dia você fuma/fumava? []

A.4- Se parou de fumar por algum tempo, durante quantos anos você parou(no total)? []

A.5- Se ex-fumante, qual a sua idade quando parou de fumar pela última vez? []

A.6- Usa/ou algumas das seguintes drogas:

[1] Maconha [2] Cocaína [3] Craque [4] Ecstasy [5] LSD
[6] Cola [7] Outras [8] Não usa [9] Mais de uma acima

A.7- Frequência de uso:

[1] só experimentei [2] diário [3] ocasional [4] fins de semana.

A.8- A quanto tempo parou de usar drogas? []

A.9- Tem Diabetes? [1] sim [2] não [3] Não Sei [4] Não Responde

A.10- Já teve DST (doença sexualmente transmissível)? [1] sim [2] não [3] Não Sei [4] Não Responde

Se sim, quais:

A.11- Sífilis [1] sim [2] não [3] Não Sei [4] Não Responde

A.12- Gonorréia [1] sim [2] não [3] Não Sei [4] Não Responde

A.13- Herpes genital [1] sim [2] não [3] Não Sei [4] Não Responde

A.14- Hepatite B [1] sim [2] não [3] Não Sei [4] Não Responde

A.15- Hepatite C [1] sim [2] não [3] Não Sei [4] Não Responde

A.16- Condiloma (crista de galo) [1] sim [2] não [3] Não Sei [4] Não Responde

A.17- Outras [1] sim [2] não [3] Não Sei [4] Não Responde

A.18- Tratamento prévio das lesões de condiloma: [1] sim [2] não [3] Não Sei

A.19- Se sim, qual?

A.20 Quando: ____ / ____ / ____

[1] cirúrgico [2] ATA [3] Podofilina [4] Podofilotoxina
[5] Criocautério [6] Imiquimod [7] Eletrocautério [8] A. Nítrico Fumegante
[9] Efurix [10] Não sei [11] Outros _____

A.21- Outras lesões de HPV: [1] Sim [2] Não [3] Não sei

A.22- Se SIM, qual o tratamento:

[1] cirúrgico [2] ATA [3] Podofilina [4] Podofilotoxina
[5] Criocautério [6] Imiquimod [7] Eletrocautério [8] A. Nítrico Fumegante
[9] Efurix [10] Não sei [11] Outros _____

A.23- A (O) companheira (o) tem HPV ? [1] Sim [2] Não [3] Não sei [4] Não tem Companheira(o)

A.24- Se sim e for **mulher**, qual o laudo?

[01] NIC I [05] NIVA I [09] NIV I [13] AIN I [17] Não sabe
[02] NIC II [06] NIVA II [10] NIV II [14] AIN II [18] Condiloma
[03] NIC III [07] NIVA III [11] NIV III [15] AIN III [19] C. Gigante
[04] CA de Colo [08] CA de Vagina [12] CA de Vulva [16] CA de Anus

A.25- Se sim e for **homem**, qual o laudo?

[1] PIN I [5] AIN I [9] Não sabe
[2] PIN II [6] AIN II [10] Condiloma
[3] PIN III [7] AIN III [11] Condiloma Gigante
[4] Ca de pênis [8] Ca de ânus

TRATAMENTO ANTIRETROVIRAL

(1) AZT (2) DDI (3) DDC (4) D4T (5) 3TC (6) ABC (7) Nevirapina (8) Efavirenz (9) Delaverdina
(10) Indinavir (11) Ritonavir (12) Saquinavir (13) Nelfinavir (14) Amprenavir (15) Kaletra
(16) Atazanavir (17) Tenofovir (18) Outros (19) Não Usa

T.1- 1º Esquema _____ T.2- Data Início: ___ / ___ / ___
 T.3- 2º Esquema _____ T.4- Data Início: ___ / ___ / ___
 T.5- 3º Esquema _____ T.6- Data Início: ___ / ___ / ___
 T.7- 4º Esquema _____ T.8- Data Início: ___ / ___ / ___
 T.9-Esquema Atual _____ T.10- Data Início: ___ / ___ / ___
 T.11- Já interrompeu alguma vez o tratamento para HIV [1] Sim [2] Não
 T.12- Se sim, por quanto tempo? [] meses

DOENÇAS OPORTUNISTAS ASSOZIADAS AO HIV

(1) CMV (2) Criptococose (3) Criptosporidíase (4) Esofagite por Cândida (5) Herpes Zóster (6)
Histoplasmose (7) Linfoma Não Hodking (8) Linfoma primário de Cérebro (9) LEMP (10) MAC (11)
Pneumocistose (12) Neurotoxoplasmose (13) TB (14) S. Kaposi (15) Outras (16) Ignorado (17)
Nenhuma

D.1- Oportunista 1: _____ D.2- Data: ___ / ___ / ___
 D.3- Oportunista 1: _____ D.4- Data: ___ / ___ / ___
 D.5- Oportunista 1: _____ D.6- Data: ___ / ___ / ___
 D.7- Oportunista 1: _____ D.8- Data: ___ / ___ / ___

EXAME FÍSICO - MOMENTO 1

E.1- Postectomizado [1] sim [2] não
 E.2- Condiloma [1] sim [2] não
 E.3- Úlcera [1] sim [2] não
 E.4- Outras [1] sim [2] não _____
 E.5- Peniscopia com aumento de 16x, sem ácido acético a 5%, achados: _____
 [1] Normal [2] Mácula [3] Pápula [4] Mancha [5] Condiloma [6] Não realizado.
 E.6- Se condiloma, número de lesões:
 [1] 1 a 3 lesões [2] 4 a 7 lesões [3] 8 ou mais lesões.
 E.7- Locais: _____
 [1] Glande [2] Sulco bálabamo-prepucial [3] Prepúcio [4] Haste peniana
 [5] Escroto [6] Ânus [7] Meato Uretral [8] Virilha
 E.8- Peniscopia com aumento de 16x, com ácido acético a 5% por 5 min., achados:
 Lesões aceto-branca [1] sim [2] não
 E.9- Se lesões aceto-branca, número de lesões:
 [1] 1 a 3 lesões [2] 4 a 7 lesões [3] 8 ou mais lesões.
 E.10- Locais: _____
 [1] Glande [2] Sulco bálabamo-prepucial [3] Prepúcio [4] Haste peniana
 [5] Escroto [6] Ânus [7] Meato Uretral
 E.11- Raspado ou escova de células peniana [1] sim [2] não
 E.12- Biópsia [1] sim [2] não
 E.13- Tratamento Instituído:
 [1] cirúrgico [2] ATA [3] Podofilina [4] Podofilotoxina
 [5] Criocautério [6] Imiquimod [7] Eletrocautério [8] A. Nítrico Fumegante
 [9] Efurix [10] Nenhum [11] Outros _____

EXAME LABORATORIAL

L.1- Teste de HIV Positivo. [1] Sim [2] Não [3] Não Fiz

L.2- Data do Teste: .../.../.....

L.3- Tempo de HIV Positivo [] meses

L.4- Qual forma de contaminação:

[1] heterossexual [2] homossexual [3] bissexual [4] Hemotransusão
[5] UDI [6] não sabe [7] Não Responde

L.5- Tem Hepatite C? [1] Sim [2] Não [3] Não fez exame

L.6- Se Sim qual o tratamento:

[1] Interferon [2] Ribaverina [3] 1 e 2 [4] Outros [5] Sem medicação

L.7- Tem Hepatite B? [1] Sim [2] Não [3] Não fez exame

L.8- Se Sim qual o tratamento:

[1] Portador [2] Cura [3] Vacinado

L.9- Tem Sífilis? [1] Sim [2] Não [3] Não fez exame

CARGA VIRAL DO HIV

L.10- CV Inicial _____

L.11 Log: _____

L.12- Data: __/__/____

L.13- CV Atual _____

L.14 Log: _____

L.15- Data: __/__/____

CONTAGEM CD4/CD8 INICIAL- TRATAMENTO - ATUAL

| | Tratamento | CV HIV | Log | CD4 | % CD4 | CD8 | % CD8 | CD4/CD8 | Data |
|---------|------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|-------|
| Inicial | L.16 | L.17 | L.18 | L.19 | L.20 | L.21 | L.22 | L.23 | L.24 |
| | L.25 | L.26 | L.27 | L.28 | L.29 | L.30 | L.31 | L.32 | L.33 |
| | L.34 | L.35 | L.36 | L.37 | L.38 | L.39 | L.40 | L.41 | L.42 |
| | L.43 | L.44 | L.45 | L.46 | L.47 | L.48 | L.49 | L.50 | L.51 |
| | L.52 | L.53 | L.54 | L.55 | L.56 | L.57 | L.58 | L.59 | L.60 |
| | L.61 | L.62 | L.63 | L.64 | L.65 | L.66 | L.67 | L.68 | L.69 |
| | L.70 | L.71 | L.72 | L.73 | L.74 | L.75 | L.76 | L.77 | L.78 |
| | L.79 | L.80 | L.81 | L.82 | L.83 | L.84 | L.85 | L.86 | L.87 |
| Atual | L.88 | L.89 | L.90 | L.91 | L.92 | L.93 | L.94 | L.95 | L.96 |
| | L.97 | L.98 | L.99 | L.100 | L.101 | L.102 | L.103 | L.104 | L.105 |
| | L.106 | L.107 | L.108 | L.109 | L.110 | L.111 | L.112 | L.113 | L.114 |

Lauda do Momento 1: Recebido em: ___/___/___

- LD1a. Biópsia "A"
 [1] Coilocitose [2] Paraceratose [3] Acantose [4] Papilomatose [5] PIN I [6] PIN II
 [7] PIN III [8] CA [9] Normal [10] condiloma [11] Outros _____
- LD1b. Biópsia "B"
 [1] Coilocitose [2] Paraceratose [3] Acantose [4] Papilomatose [5] PIN I [6] PIN II
 [7] PIN III [8] CA [9] Normal [10] condiloma [11] Outros _____
- LD1c. Biópsia "C"
 [1] Coilocitose [2] Paraceratose [3] Acantose [4] Papilomatose [5] PIN I [6] PIN II
 [7] PIN III [8] CA [9] Normal [10] condiloma [11] Outros _____

Lauda do Momento 1: Recebido em: ___/___/___

- LD2a. Biópsia "A"
 [1] Coilocitose [2] Paraceratose [3] Acantose [4] Papilomatose [5] PIN I [6] PIN II
 [7] PIN III [8] CA [9] Normal [10] condiloma [11] Outros _____
- LD2b. Biópsia "B"
 [1] Coilocitose [2] Paraceratose [3] Acantose [4] Papilomatose [5] PIN I [6] PIN II
 [7] PIN III [8] CA [9] Normal [10] condiloma [11] Outros _____
- LD2c. Biópsia "C"
 [1] Coilocitose [2] Paraceratose [3] Acantose [4] Papilomatose [5] PIN I [6] PIN II
 [7] PIN III [8] CA [9] Normal [10] condiloma [11] Outros _____

Lauda do Momento 1: Recebido em: ___/___/___

- LD3a. Biópsia "A"
 [1] Coilocitose [2] Paraceratose [3] Acantose [4] Papilomatose [5] PIN I [6] PIN II
 [7] PIN III [8] CA [9] Normal [10] condiloma [11] Outros _____
- LD3b. Biópsia "B"
 [1] Coilocitose [2] Paraceratose [3] Acantose [4] Papilomatose [5] PIN I [6] PIN II
 [7] PIN III [8] CA [9] Normal [10] condiloma [11] Outros _____
- LD3c. Biópsia "C"
 [1] Coilocitose [2] Paraceratose [3] Acantose [4] Papilomatose [5] PIN I [6] PIN II
 [7] PIN III [8] CA [9] Normal [10] condiloma [11] Outros _____

Lauda do Momento 1: Recebido em: ___/___/___

- LD4a. Biópsia "A"
 [1] Coilocitose [2] Paraceratose [3] Acantose [4] Papilomatose [5] PIN I [6] PIN II
 [7] PIN III [8] CA [9] Normal [10] condiloma [11] Outros _____
- LD4b. Biópsia "B"
 [1] Coilocitose [2] Paraceratose [3] Acantose [4] Papilomatose [5] PIN I [6] PIN II
 [7] PIN III [8] CA [9] Normal [10] condiloma [11] Outros _____
- LD4c. Biópsia "C"
 [1] Coilocitose [2] Paraceratose [3] Acantose [4] Papilomatose [5] PIN I [6] PIN II
 [7] PIN III [8] CA [9] Normal [10] condiloma [11] Outros _____

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TÍTULO: Co-infecção entre o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e o Vírus papiloma humano (HPV) em homens: correlacionar a carga viral de HIV sobre o número de lesões papilomatosas (clínicas e subclínicas), se há gravidade e resposta ao tratamento.

Meu nome é Roberto José, médico urologista e responsável por esta pesquisa que tem duração de 2 anos. De início eu quero agradecer ao senhor por participar nesse estudo. Nós estamos conduzindo esse estudo com a finalidade de esclarecer se determinadas características do HPV (vírus papiloma humano) no sexo masculino, conhecido popularmente com "crista de galo" ou condiloma, pode ser influenciado pelo vírus HIV e quais os seus tipos mais comuns encontrados nessa população. Para isso vamos fazer uma série de perguntas a muitos homens HIV positivos e negativos atendidos nesse hospital, Centro de Referência e Treinamento DST/AIDS, São Paulo e procedimentos como: peniscopia, que é um exame que olha o pênis (órgão masculino) com lente de aumento após colocação de um líquido chamado ácido acético (vinagre);

Coleta de material da genitália (órgão masculino) através de raspagem (escovação);

Se na peniscopia aparecer uma lesão suspeita se fará uma biópsia (retirada de pequeno pedaço de pele) do local na genitália após aplicação de injeção com anestésico;

Coleta de sangue através de punção (furada) com agulha estéril (nunca foi usada) da veia do braço por pessoal treinado para contagem de CD4/CD8 e carga viral, que fazem parte da rotina do serviço, se HIV positivo.

Estes pacientes serão acompanhados neste serviço e terão garantido tratamento gratuito.

BENEFÍCIOS

Tratamento mais adequado e um diagnóstico mais preciso de sua doença.

RISCOS

Na peniscopia não causa dor;

No raspado da genitália masculina não causa dor, poderá causar pequena aflição no local;

Biópsia pode causar dor no momento da aplicação do anestésico e pequeno sangramento após retirada do pedacinho de pele, que será resolvido com aplicação de medicação local e ficará um pequena ferida que desaparecerá com tempo aproximado de 10 dias;

Sangramento que pode ocorrer no local da retirada de sangue da veia do braço que será resolvido por compressão com dedo e curativo local.

Eu irei também fazer várias perguntas que serão registradas neste caderno; algumas questões serão sobre assuntos íntimos. Por favor pergunte se o senhor não entender o significado de alguma questão. A qualquer momento o senhor pode recusar-se a continuar ou a responder perguntas específicas.

Devo dizer que tudo que o senhor responder na entrevista será estreitamente confidencial, sigiloso e as informações colhidas das pessoas que irão participar do estudo serão usadas apenas em relatos científicos, sem nenhuma identificação pessoal e que os resultados dos exames realizados nesta pesquisa serão incluídas no seu prontuário.

Se não desejar participar do estudo, você será atendido normalmente, de acordo com a rotina do serviço sem prejuízo em relação ao seu possível tratamento. Se quiser interromper sua participação no estudo, poderá fazê-lo no momento que desejar e não haverá prejuízo no atendimento.

EU CONCORDO EM PARTICIPAR DO ESTUDO, NAS CONDIÇÕES DESCRITAS.

Nome: _____ RG: _____

Local: _____ Data: ____/____/____

Caso você tenha qualquer dúvida entra em contato com o pesquisador responsável e/ou o coordenador do comitê de ética em pesquisa do CRT-DST/AIDS nos endereços abaixo:

Responsável pelo estudo, Roberto José Carvalho da Silva, Urologista do núcleo de Especialidade do Centro de Referência e Treinamento DST/AIDS.

Rua Santa Cruz, 81, Vila Mariana. CEP 04121-000 São Paulo/SP. Telefone: 557-9911 Ramal 2034 ou 2010.

Assinatura: _____ Data: ____/____/____

**Coordenador pelo Comitê de Ética em Pesquisa do C.R.T. - DST/AIDS,
Dr Eduardo Ronner Lagonegro, Rua Santa Cruz, 81, Vila Mariana. CEP 04121-000 São Paulo/SP
Telefone: 5579-9911 Ramal 2107 /5084-5235**

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arany I, Tyring SK. Systemic immunosuppression by HIV infection influences HPV transcription and thus local immune responses in condyloma acuminatum. *Int J STD AIDS*. 1998; 9(5):268-71.

Arends MJ, Wyllie AH, Bird CC. Papillomaviruses and human cancer. *Human pathol*. 1990;21:686-98.

Aynaoud O, Piron D, Barrasso R, Poveda JD. Comparison of clinical, histological, and virological symptoms of HPV in HIV-1 infected men and immunocompetent subjects. *Sex Transm Infect*. 1998; 74: 32-4.

Baggish MS. Treating viral venereal infections with the CO2 laser. *J Reprod Med*. 1982; 27:737-42.

Baldwin SB, Wallace DR, Papenfuss MR, Abrahamsen M, Vaught LC, Giuliano AR. Condom use and other factors affecting penile human papillomavirus detection in men attending a sexually transmitted disease clinic. *Sex Transm Dis*. 2004;31: 601-7.

Baldwin SB, Wallace DR, Papenfuss MR, Abrahamsen M, Vaught LC, Kornegay JR, Hallum JA, Redmond SA, Giuliano AR. Human papillomavirus infection in men attending a sexually transmitted disease clinic. *J Infect Dis*. 2003; 187:1064-70.

Banerjee SK, Makdisi WF, Weston AP, Mitchell SM, Campbell DR. Microwave-based DNA extraction from paraffin-embedded tissue for PCR amplification. *Biol Techniques*. 1995;18:768-73.

Barker E, Barnett SW, Stamatatos LL, Levy JA. Human Immunodeficiency Virus. In: LEVY J.A *The retroviridae*. New-York: Plenum , EUA, 1995, v 4, p.1-98.

Barraso R. HPV-related genital lesions in men. In: Munoz N, Bosch FX, Shah KV, Meheus A, eds. *The epidemiology of Human Papillomavirus and Cervical cancer*. Lyon: IARC Scientific Publication n°119. 1992:85-92.

Barton SE, Maddox PH, Jenkins D, Edwards R, Cuzick J, Singer A. Effect of cigarette smoking on cervical epithelial immunity: a mechanism for neoplastic change? *Lancet*. 1988;2:652-4.

Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of papillomavirus infections. *J Clin Virol*. 2005;32 Suppl 1:S16-24.

Bauer HM, Hildesheim A, Schiffman MH, Glass AG, Rush BB, Scott DR, Cadell DM, Kurman RJ, Manos MM. Determinants of genital human papillomavirus infection in low risk women in Portland, Oregon. *Sex Transm Dis.* 1993;20:274-8.

Bauer HM, Ting Y, Greer CE, Chambers JC, Tashiro CJ, Chimera J, Reingold A, Manos MM. Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by a PCR-based method. *JAMA.* 1991;265:472-7.

Bergman A, Nalick R. Prevalence of human papillomavirus infection in men: comparison of the partners of infected and uninfected women. *J Reprod Med.* 1992;37:710-2.

Bernard C, Mouglin C, Madoz L, Drobacheff C, Van Landuyt H, Laurent R, Lab M. Viral co-infections in human papillomavirus-associated anogenital lesions according to the serostatus for the human immunodeficiency virus. *Int J Cancer.* 1992; 52: 731-7.

Bernard H, Chan S Y, Delius H. Evolution of papillomaviruses. *Curr Top Microbiol.* 1994a;186:33-54.

Bernard H, Chan S, Manos MM, Ong C, Villa LL, Delius H, Peyton CL, Bauer HM, Wheeler CH. Identification and assessment of known and novel human papillomavirus by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogeny algorithms. *J Infect Dis.* 1994b; 170:1077-85.

Bernard HU. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol.* 2005; 32 (Suppl) 1:S1-6.

Bezerra AL, Lopes A, Santiago GH, Ribeiro KC, Latorre MR, Villa LL. Human papillomavirus as a prognostic factor in carcinoma of the penis: analysis of 82 patients treated with amputation and bilateral lymphadenectomy. *Cancer.* 2001; 91: 2315-21.

Bleeker MC, Hogewoning CJ, Berkhof J, Voorhorst FJ, Hesselink AT, van Diemen PM, van den Brule AJ, Snijders PJ, Meijer CJ. Concordance of specific human papillomavirus types in sex partners is more prevalent than would be expected by chance and is associated with increase viral loads. *Clin Infect Dis.* 2005;41:612-20.

Boletim Epidemiológico-Aids e DST. Ano I-nº1-01ª –26ª de 2004. Março 2005. Ministério da Saúde-Secretaria de Vigilância em Saúde-Programa Nacional de DST/Aids.

Boletim Epidemiológico.CRT-DST/Aids-CVE.Ano IV-nº1-novembro2005, - Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.Programa Estadual de DST/Aids.

Bour S, Geleziunas R, Wainberg MA. The human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) CD4 receptor and its central role in promotion of HIV-1 infection. *Microbiol Rev.* 1995; 59: 63-93.

Braun L. Role of human immunodeficiency virus infection in the patogenesis of human papillomavirus-associated cervical neoplasia. *Am J Pathol* 1993; 144:209.

Breese PL, Judson FN, Penley KA, Douglas JM Jr. Anal human papillomavirus infection among homosexual and bisexual men: prevalence of type-specific infection and association with human immunodeficiency virus. *Sex Transm Dis.* 1995; 22: 7-14.

Broker TR. Structure and genetic expression of papillomavirus. *Obstet Gynecol Clin. North Am.* 1987;14:329-47.

Brown DR, Bryan JT, Wools K, Rodriguez M, Tying S. Detection of Human papillomavirus L1 Protein in Condylomata Acuminata From Adults With Defects in Cell-Mediated Immunity..*J Med Virology.* 1993; 64:79-84.

Brown T, Yen-Moore A, Tying S. An overview of sexually transmitted diseases. Part II. *J Am Acad Dermatol.* 1999; 41:661-77;quiz 678-80.

Brown DR, Fife KH. Human papillomavirus infections of the genital tract. *Med Clin North Am.* 1990; 74:1455-85.

Buechner SA. Common skin disorders of the penis. *BJU Int.* 2002;90:498-506.

Burk RD, Kelly P, Feldman J, Bromberg J, Vermund SH, DeHovitz JA, Landesman SH.Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. *Sex Transm Dis.* 1996; 23: 333-41.

Campion MJ, Singer A, Clarkson PK, McCance DJ. Increased risk of cervical neoplasia in consorts of men with penile condylomata acuminata. *Lancet.* 1985; 27;1(8435):943-6.

Carvalho JJM. Prevalência e padronização diagnóstica da infecção genital pelo HPV em homens atendidos em clínica Urológica [dissertação].São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo;1999.

Cason J, Kaye JN, Jewers RJ, Kambo PK, Bible JM, Kell B, Shergill B, Pakarian F, Raju KS, Best JM. Perinatal infection and persistence of human papillomavirus types 16 and 18 in infants. *J Med Virol.* 1995; 47:209-18.

Castellsagué X, Bosch FX, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV, de Sanjose S, Eluf-Neto J, Ngelangel CA, Chichareon S, Smith JS, Herrero R, Moreno V, Franceschi S. Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners. *N Engl J Med* 2002;346:1105-12.

Castellsagué X, Ghaffari A, Daniel RW, Bosch FX, Munoz N, Shah KV. Prevalence of penile human papillomavirus DNA in husbands of women with and without cervical neoplasia: a study in Spain and Colombia. *J Infect Dis.* 1997; 176:353-61.

Centers for disease department of health and human services *Prevention of genital hpv infection and sequelae: Report of an External Consultants Meeting Division of STD Prevention December 1999.*

Chan WK, Klock G, Bernard HU. Progesterone and glucocorticoid response elements occur in the long control regions of several human papillomaviruses involved in anogenital neoplasia. *J Virol.* 1989;63: 3261-9.

Chen S, Slavin J, Fairley CK, Tabrizi SN, Borg AJ, Billson V, Garland SM. The absence of HPV DNA in genital specimens from infants. *Genitourin Med.* 1993;69:270-2.

Chiang CM, Ustav M, Stenlund A, Ho TF, Broker TR, Chow LT. Viral E1 and E2 proteins support replication of homologous and heterologous papillomaviral origins. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992;89:5799-803.

Chin-Hong PV, Vittinghoff E, Cranston RD, Buchbinder S, Cohen D, Colfax G, Da Costa M, Darragh T, Hess E, Judson F, Koblin B, Madison M, Palefsky JM. Age-Specific prevalence of anal human papillomavirus infection in HIV-negative sexually active men who have sex with men: the EXPLORE study. *J Infect Dis.* 2004 190(12):2070-6.

Chopra KF, Tyring SK. The impact of the human immunodeficiency virus on the human papillomavirus epidemic. *Arch Dermatol.* 1997;133: 629-33.

Clapham PR, Weiss RA. Immunodeficiency viruses. Spoilt for choice of co-receptors. *Nature.* 1997;388:230-1.

Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Cara A, Gallo RC, Lusso P. The V3 domain of the HIV-1 gp120 envelope glycoprotein is critical for chemokine-mediated blockade of infection. *Nat Med.* 1996; 2: 1244-7.

Cox JT, Lorinez AT, Schiffman MH, Sherman ME, Cullen A, Kurman RI. Human papillomavirus testing by hybrid capture appears to be useful in triaging women with a cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance. *Am. J Obstet Gynecol.* 1995; 172:946-54.

Crook T, Tidy JA, Vousden KH. Degradation of p53 can be target by HPV E6 sequences distinct from those required for p53 binding and trans-activation. *Cell*. 1991;67:547-56.

De Jong JJ, Goudsmit J, Keulen W, Klaver B, Krone W, Krone W, Tersmette M, Ronde A. Human immunodeficiency virus type 1 clones chimeric for the envelope V3 domain differ in syncytium formation and replication capacity. *J Virol*. 1992. 66: 757-65.

De Villiers EM, Faluquet C, Broker TR, Bernard HU, Zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324:17-27.

De Villiers EM. Taxonomic classification of human papillomaviruses. *Papillomavirus Report*, 2001; 12:57-63.

Derchain SFM, Jorge JPN, Andrade L, Pinto Neto AM, Silva JP. Infection by human papillomavirus in teenagers sexually active: clinic and subclinic manifestations. *Rev Paul Med*. 1995; 113:948-52.

Dillner J, von Krogh G, Horenblas S, Meijer CJ. Etiology of squamous cell carcinoma of the penis. *Scand J Urol Nephrol Suppl*. 2000;205:189-93.

Doorbar J, Campbell D, Grand RJ, Gallimore PH. Identification of the human papilloma virus-1a E4 gene products. *EMBO J*. 1986; 5:355-62.

Doorbar J, Ely S, Sterling J, Mclean C, Crawford L. Specific interaction between HPV-16 E1-E4 and cytokeratins results in collapse of the epithelial cell intermediate filament network. *Nature*. 1991;352:824-7.

Doorbar J, Gallimore PH. Identification of proteins encoded by the L1 and L2 open reading frames of human papillomavirus 1a. *J Virol*. 1987;61:2793-99.

Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol*. 2005 ;32 Suppl 1:S7-15.

Dyrson N, Guida P, Münger K, Harlow E. Homologous sequences in adenovirus E1A and human papillomavirus E7 protein mediate interaction with the same set of cellular proteins. *J Virol*. 1992; 66:6893-902.

Dyrson N, Howley PM, Münger K, Harlow E. The human papillomavirus 16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science*. 1989; 243:934-7.

Eluf-Neto J. Risco cervical: estudo do parceiro masculino em área com alta incidência da doença. [Livre docência] São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1999.

Ferenczy A, Winkler B. Cervical intraepithelial neoplasia and condyloma in: Kurman RJ. *Blaustein's pathology of the female genital Tract*. 3rd ed. 1993, p.179-182.

Franceschi S, Castellsague X, Dal Maso L, Smith JS, Plummer M, Ngelangel C, Chichareon S, Eluf-Neto J, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ, Bosch FX, Munoz N. Prevalence and determinants of human papillomavirus genital infection in men. *Br J Cancer* 2002; 86:705-11.

Franco EL, Villa LL, Ruiz A, Costa MC. Transmission of cervical human papillomavirus infection by sexual activity: differences between low and high oncogenic risk types. *J Infect Dis*. 1995; 172:756-63.

Gage JR, Sandhu AK, Nihira M, Bonecini-Almeida MG, Cristoforoni P, Kishimoto T, Montz FJ, Martinez-Maza O. Effects of human papillomavirus-associated cells on human immunodeficiency virus gene expression. *Obstet Gynecol*. 2000; 96:879-85.

Gallowy DA. Papillomavirus vaccines in clinical trials. *Lancet Infect Dis*. 2003; 3:469-75.

Garzetti GG, Ciavatti A, Butini L, Vecchi A, Montroni M. Cervical dysplasia in HIV-seropositive women: role of human papillomavirus infection and immune status. *Gynecol Obstet Invest*. 1995;40(1):52-6.

Giuliano AR, Sedjo RL, Roe DJ, Harri R, Baldwi S, Papenfuss MR, Abrahamsen M, Inserra P. Clearance of oncogenic human papillomavirus (HPV) infection: effect of smoking (United States). *Cancer Causes Control*. 2002;13(9):839-46.

Gollnick H, Barasso R, Jappe U, Ward K, Eul A, Carey-Yard M, Milde K. Safety and efficacy of imiquimod 5% cream in the treatment of penile genital warts in uncircumcised men when applied three times weekly or once per day. *Int J STD AIDS*. 2001;12:22-8.

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

Gorbach PM, Drumright LN, Holmes KK. Discord, discordance, and concurrency: comparing individual and partnership-level analyses of new partnerships of young adults at risk of sexually transmitted infections. *Sex Transm Dis*. 2005;32(1):7-12.

Gravitt PE, Peyton CL, Alessi TQ, Wheeler CM, Coutlee F, Hildesheim A, Schiffman MH, Scott DR, Apple RJ. Improved amplification of genital human papillomaviruses. *J Clin Microbiol*. 2000; 38:357-61.

Griffiths M, Penna LK, Tovey SJ. Aceto-white change of the glans penis associated with balanitis not human papillomavirus infection. *Int J STD AIDS* 1991;2:211-12.

Gross G, Von Krogh G, Barrasso R. Therapy - genitoanal lesions. In: Gross, G, Von Krogh G, editors. *Human papillomavirus infections in dermatovenereology*. Boca Raton: CRC-Press; (USA) 1997. p.389.

Hagensee ME, Cameron JE, Leigh JE, Clark RA. Human papillomavirus infection and disease in HIV-infected individuals. *Am J Med Sci*. 2004; 328: 57-63.

Handsfield HH. Clinical presentation and natural course of anogenital warts. *Am J Med*. 1997;102:16-20.

Hildesheim A, Schiffman MH, Gravitt PE, Glass AG, Greer CE, Zhang T, Scott DR, Rush BB, Lawler P, Sherman ME. Persistence of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women. *J Infect Dis*. 1994; 169:235-40.

Hippelainen M, Syrjanen S, Hippelainen M, Koskela H, Pulkkinen J, Saarikoski S, Syrjanen K. Prevalence and risk factors of genital human papillomavirus (HPV) infections in healthy males: a study on Finnish conscripts. *Sex Transm Dis*. 1993; 20:321-8.

Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med*. 1998; 338:423-8.

Ho GY, Burk RD, Klein S, Kadish AS, Chang CJ, Palan P, Basu J, Tachezy R, Lewis R, Romney S. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst*. 1995; 87:1365-71.

Howley PM. Papillomavirinae and their replication. In: Fields B, Knipe DM, Howley PM. *Fundamental Virology*. 2nd ed. New York: Raven Press; 1996, p.947-78.

IARC –International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. *Human papillomaviruses*. Lyon, Human papillomavirus, 1995. Vol 64.

I Consenso Brasileiro de HPV. Carvalho JJM, OyaKawa N., In: BG Editora e Produções Culturais LTDA. Cultural editores. São Paulo; 2000.p.1-16

Kaye JN, Cason J, Pakarian FB, Jewers RJ, Kell B, Bible J, Raju KS, Best JM. Viral load as a determinant for transmission of human papillomavirus type 16 from mother to child. *J Med Virol*. 1994; 44:415-21.

Kaye JN, Starkey WG, Kell B, Biswas C, Raju KS, Best JM, Cason J. Human papillomavirus type 16 in infants: use of DNA sequence analyses to determine the source of infection. *J Gen Virol.* 1996 ;77:1139-43.

Kern SE, Kinzler KW, Bruskin A, Jarosz D, Friedman P, Prives C, Vogelstein Identification of p53 as a sequence-specific DNA-binding protein. *Science*, 1991;252:1708-11.

Kirby P, Corey L. Genital human papillomavirus infections. *Infect Dis Clin North Am.* 1987; 1:123-43.

Kjaer SK, Chackerian B, van den Brule AJC, Svare EI, Paull G, Walbomers JMM, Schiller JT, Bock JE, Sherman ME, Lowy DR; Meijer CLM. High-risk human papillomavirus is sexually transmitted: evidence from a follow-up study of virgins starting sexual activity (intercourse). *Cancer Epidemiol Biomark. Prev.* 2001 ;10:101-6.

Kjaer SK, Munk C, Winther JF, Jorgensen HO, Meijer CJ, van den Brule AJ. Acquisition and persistence of human papillomavirus infection in younger men: a prospective follow-up study among Danish soldiers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005; 14: 1528-33.

Komly CA, Breitburd F, Croissant O, Streeck RE. The L2 open reading frame of human papillomavirus type 1a encodes a minor structural protein carrying type specific antigen. *J. Virol.* 1986; 60:813-816.

Kreuter A, Brockmeyer NH, Hochdorfer B, Weissenborn SJ, Stucker M, Swoboda J, Altmeyer P, Pfister H, Wieland U. Clinical spectrum and virologic characteristics of anal intraepithelial neoplasia in HIV infection. *J Am Acad Dermatol.* 2005;52:603-8.

Kyo S, Inoue M, Koyama M, Fujita M, Tanizawa O, Hakura A. Detection of high-risk human papillomavirus in the cervix and semen of sex partners. *J Infect Dis.* 1994; 170:682-5.

Lajous M, Mueller N, Cruz-Valdéz A, Aguilar LV, Franceschi S, Hernández-Ávila M, Lazcano-Ponce E . Determinants of prevalence, acquisition, and persistence of human papillomavirus in healthy Mexican military men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005 ;14:1710-6.

Langley CL, Benga-De E, Critchlow CW, Ndoye I, Mbengue-Ly MD, Kuypers J, Woto-Gaye G, Mboup S, Bergeron C, Holmes KK, Kiviat NB. HIV-1, HIV-2, human papillomavirus infection and cervical neoplasia in high-risk African women. *AIDS.* 1996 10(4):413-7.

Lassus J, Happonen H, Rankia A. Carbon dioxide (CO₂)-laser therapy cures macroscopic lesions, but viral genome is not eradicated in men with therapy-resistant HPV infection. *Sex Transm Dis.* 1994; 21: 297-302.

Lauro C, Ammaturo FP, Quirino L, Rotondi M, Soriano A, Panariello S. Evaluation of partners of women with HPV infection. *Minerva Ginecol.* 2000; 52:503-7.

Law CL, Qassim M, Thompson CH, Rose BR, Grace J, Morris BJ, Cossart YE. Factors associated with clinical and sub-clinical anal human papillomavirus infection in homosexual men. *Genitourin Med.* 1991; 67: 92-8.

Lazcano-Ponce E, Herrero R, Munoz N, et al. High prevalence of human papillomavirus infection in Mexican males. *Sex Transm Dis* 2001; 28:277-80.

Lechner M S, Laimins La. Inhibition of p53 DNA by human papillomavirus E6 proteins. *J Virol.* 1994;.68:4262-73.

Levine AJ. P53, the cellular gatekeeper for growth and división. *Cell.* 1997;88:323-31.

Levine RU, Crum CP, Herman E, Silvers D, Ferenczy A, Richart RM. Cervical papillomavirus infections and intraepithelial neoplasia: a study of male sexual partners. *Obstet Gynecol.* 1984; 64:19-20.

Levy JA. Human immunodeficiency Virus. In: The retroviridae, LEVY J.A, editor New York:Plenum Press, 1995.p 1-98.

Lopes A, Bezerra A L, Pinto CA, Serrano SV, De Mell OC, Villa LL. p53 as a new prognostic factor for lymph node metastasis in penile carcinoma: analysis of 82 patients treated with amputation and bilateral lymphadenectomy. *J Urol.*2002; 168:81-6.

Lowy D, Kirnbauer R, Schiller J. Genital human papillomavirus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994; 91:2436-40.

Magnusson P, Lichtenstein P, Gyllensten U. Heritability of cervical tumours. *Int J Cancer.* 2000; 88:698-701.

Mandal D, Hays KR, Ray TK, Goorney BP, Stanbridge CM, Corbitt G. Prevalence of occult human papillomavirus infection, determined by cytology and DNA hybridization, in heterosexual men attending a genitourinary medicine clinic. *Int J STD AIDS.* 1991; 2:351-5.

Manos MM, Ting Y, Wright D K, Lewis A J, Broker TR, Wolinsky S M. Use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. *Cancer Cells.* 1989; 7:209-14.

Meijer CJLM, Snijders PJF, Brule A. Screening for cervical cancer: should we test for infection with high-risk HPV? *CMAJ.* 2000; 163:535-8.

Meisels A, Fortin R, Roy M. Condylomatous lesions of the cervix and vagina, II..Cytologic, colposcopic and histopathologic study. *Acta Cytol.* 1977;21:379-90.

Modis Y, Trus LB e Harrison ST. Atomic model of the papillomavirus capsid. *EMBO J.* 2002;21:4754-62.

Moscicki AB, Ellenberg JH, Vermund SH, Holland CA, Darragh T, Crowley-Nowick PA, Levin L, Wilson CM. Prevalence of and risks for cervical human papillomavirus infection and squamous intraepithelial lesions in adolescent girls: impact of infection with human immunodeficiency virus. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2000; 154(2):127-34.

Münger K, Werness B A, Dyson N, Phelps W C, Harlow E, Howley P M. Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product. *EMBO J.* 1989;8:4099-4105.

Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah K V, Snijders PJF, Meijer CJLM. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *N Engl J Med.* 2003. 348:518-527.

Nicolau SM, Camargo CG, Stavale JN, Castelo A, Dores GB, Lorincz A, Lima GR. Human papillomavirus DNA detection in male sexual partners of women with genital human papillomavirus infection. *Urology.* 2005; 65:251-5.

Nuovo GI, Forde A, Macconnell P, Fahrenwal DR. In situ detection of PCR-amplified HIV-1 nucleic acids and tumor necrosis factor cDNA in cervical tissues. *Am J Pathol.* 1993; 143:40.

O'Connor M, Apt D, Bernard HU. *DNA tumor virus: papiloma.* Encyclopedia of Cancer. California: Academic Press, 1997. p.520-31.

Oriel JD. Natural history of genital warts. *Br J Vener Dis.* 1971; 47:1-3.

Pakarian F, Kaye J, Cason J, Kell B, Jewers R, Derias NW, Raju KS, Best JM. *Cancer associated human papillomaviruses: perinatal transmission and persistence.* *Br J Obstet Gynaecol.* 1994; 101:514-7.

Palefsky JM, Holly EA, Efirdc JT, Da Costa M, Jay N, Berry JM, Darragh TM. Anal intra-epithelial neoplasia in the highly active antiretroviral therapy era among HIV-positive men who have sex with men. *AIDS.* 2005;19:1407-14.

Palefsky JM, Holly EA, Gonzales J, Ahn DK, Greenspan JS. Detection of human papillomavirus DNA in anal intraepithelial neoplasia and anal cancer. *Cancer Res.* 1991;51:1014-9.

Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML, Jay N, Berry JM, Darragh TM. High incidence of anal high-grade squamous intra-epithelial lesions among HIV-positive and HIV-negative homosexual and bisexual men. *AIDS*. 1998;12:495-503.

Pim D, Collins M, Banks L. Human papillomavirus type 16 E5 gene stimulates the transforming activity of the epidermal growth factor receptor. *Oncogene* 1992;7:27-32.

Pomrantz Rj, De La Monte Sm, Donogan Sp, Rota TR, Vogt MW, Craven DE, Hirsch MS. Human immunodeficiency virus (HIV) infection of the uterine cervix. *Ann Intern Med*. 1988; 108:321.

Pow-Sang MR, Benavente V, Pow-Sang JE, Morante C, Meza L, Baker M, Pow-Sang JM. Cancer of the penis. *Cancer Control*. 2002; 9:305-14.

Reid R, Stanhope CR, Herschman BR, Crum CP, Agronow SJ. Genital warts and cervical cancer. IV. A colposcopic index for differentiating subclinical papillomaviral infection from cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol*. 1984; 149:815-23.

Rezza G, Giuliani M, Branca M, Benedetto A, Migliore G, Garbuglia AR, D'Ubaldo C, Pezzotti P, Capiello G, Pomponi Formiconi D, Suligoi B, Schiesari A, Ippolito G, Giacomini G. Determinants of squamous intraepithelial lesions (SIL) on Pap smear: the role of HPV infection and of HIV-1-induced immunosuppression. DIANAIDS Collaborative Study Group. *Eur J Epidemiol*. 1997; 13:937-43.

Richart RM, Wright TC Jr. Pathology of the cervix. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 1991; 3:561-7.

Roberts S, Ashmole I, Rookes S, Gallimore P. Mutational analysis of the human papillomavirus type 16 E1--E4 protein shows that the C terminus is dispensable for keratin cytoskeleton association but is involved in inducing disruption of the keratin filaments. *J Virol* .1997;71:3554-62.

Rombaldi RL. Diagnóstico do Papilomavírus humano em lesões clínicas e subclínicas de pênis: avaliação da eficácia dos métodos coleta de material com escova e PCR, peniscopia e histologia. [Dissertação] Caxias do Sul: Universidade de Caxias do Sul; 2004.

Rosemblat C. Prevalência de HPV em parceiros de mulheres com e sem neoplasia intra-epitelial cervical (NIC). [Tese] São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2002.

Rotola A, Costa S, Monini P, Vendra C, Guida G, Terzano P, Di Luca D, Martinelli G, Cassai E. Impact of sexual habits on the clinical evaluation of male HPV infection. *Eur J Epidemiol* .1994;10:373-380.

Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SS, Higuchi H, Horn GT, Mullis KB., Erlich HA. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 1988;239:487-97.

Sanguinetti CJ, Dias Neto E, Simpson AJG. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrilamide gels. *Biotechniques*.1994;17:915-19.

Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Howley PM. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell*. 1993; 75:495-505.

Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*. 1990; 63:1129-36.

Schiffman MH, Bauer HM, Hoover RN, Glass AG, Cadell DM, Rush BB, Scott DR, Sherman ME, Kurman RJ, Wacholder S, et al. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst*. 1993; 85:958-64.

Schiller JT, Vass WC, Vousden KH, Lowy DR. The E5 open reading frame of bovine papillomavirus type 1 encodes a transforming gene. *J Virol* 1986;57:1-6.

Schneider A, Kirchmayr R, De Villiers EM, Gissmann L. Subclinical human papillomavirus infections in male sexual partners of female carriers. *J Urol*. 1988; 140:1431-4.

Schultz RE, Skelton HG. Value of acetic acid screening for flat genital condylomata in men. *J Urol* 1988;140:1431-4.

Scott M, Nakagawa M, Moscicki AB. Cell-mediated immune response to human papillomavirus infection. *Clin Diagn Lab Immunol*. 200;18(2):209-20.

Shin HR, Franceschi S, Vaccarella S, Roh JW, Ju YH, Oh JK, Kong HJ, Rha SH, Jung SI, Kim JI, Jung KY, van Doorn LJ, Quint W. Prevalence and determinants of genital infection with papillomavirus, in female and male university students in Busan, South Korea. *J Infect Dis*. 2004; 190: 468-76.

Siegel JF, Mellinger BC. Human papillomavirus in the male patient. *Urol Clin North Am*. 1992; 19:83-91.

Silverberg MJ, Ahdieh L, Munoz A, Anastos K, Burk RD, Cu-Uvin S, Duerr A, Greenblatt RM, Klein RS, Massad S, Minkoff H, Mudespatch L, Palefsky J, Piessens E, Schuman P, Watts H, Shah KV. The impact of HIV infection and immunodeficiency on human papillomavirus type 6 or 11 infection and on genital warts. *Sex Transm Dis*. 2002;29(8):427-35.

Sousa R, Dostatni N, Yaniv M. Control of papillomavirus gene expression. *Biochim Biophys Acta*. 1990; 1032:19-37.

Stanley M. The immunology of genital human papilloma virus infection. *Eur J Dermatol*. 1998; 8 (7 Suppl):8-1.

Storey A, Thomas M, Kalita A, Harwood C, Gardiol D, Mantovani F, Brever J, Leigh IM, Matlashewski G, Banks L. Role of p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. *Nature*. 1998; 393:229-34.

Strickler HD, Burk RD, Fazzari M, Anastos K, Minkoff H, Massad LS, Hall C, Bacon M, Levine AM, Watts DH, Silverberg MJ, Xue X, Schlecht NF, Melnicki S, Palefsky JM. Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human immunodeficiency virus-positive women. *J Natl Cancer Inst*. 2005 97(8):577-86.

Sun XW, Kuhn L, Ellerbrock TV, Chiasson MA, Bush TJ, Wright TC Jr. Human papillomavirus infection in women infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med*. 1997;337:1343-9.

Svare EI, Kjaer SK, Nonnenmacher B, Worm AM, Moi H, Christensen RB, van den Brule AJ, Walboomers JM, Meijer CJ, Hubbert NL, Lowy DR, Schiller JT. Seroreactivity to human papillomavirus type 16 virus-like particles is lower in high-risk men than in high-risk women. *J Infect Dis*. 1997; 176:876-83.

Svare EI, Kjaer SK, Worm AM, Osterlind A, Meijer CJLM, van den Brule AJC. Risk factors for genital HPV DNA in men resemble those found in women: a study of male attendees at a Danish STD clinic. *Sex Transm Infect* 2002; 78:215-8.

The Current Status of Development of Prophylactic Vaccines against Human Papillomavirus Infection: Report of a Technical Meeting. Geneva: International Agency for Research on Cancer, 1999.

Tommasino M, Adamczewski JP, Carlotti F, Barth C F, Manetti R, Contorni M, Cavalieri F, Hunt T, Crawford L. HPV-16 E7 protein associates with the protein kinase p53CDK2 and cyclin A. *Oncogene*. 1993; 8:195-202.

Trofatter KF Jr. Diagnosis of human papillomavirus genital tract infection. *Am. J. Med*. 1997; 102:21-7.

Tseng CJ, Liang CC, Soong YK, Pao CC. Perinatal transmission of human papillomavirus in infants: relationship between infection rate and mode of delivery. *Obstet Gynecol*. 1998; 91:92-6.

Van der Snoek EM, Niesters HG, Mulder PG, van Doornum GJ, Osterhaus AD, van der Meijden WI. Human papillomavirus infection in men who have sex with men participating in a Dutch gay-cohort study. *Sex Transm Dis.* 2003; 30:639-44.

Van Doornum GJJ, Prins M, Juffermans LHJ, Hooykaas C, Van Den Hoek JAR, Coutinho RA, Quint WGV. Regional distribution and incidence of human papillomavirus infections among heterosexual men and women with multiple sexual partners: a prospective study. *Genitourin Med.* 1994:240-46.

Vermon S, Hart CE, Reeves W, Icenogle JP. The HIV-1 tat protein enhances E2-dependent human papillomavirus transcription. *Virus Res.* 1993; 27:133.

Villa LL. Human papillomaviruses and cervical cancer. *Adv Cancer Res.* 1997; 71:321-341.

Ward K, Winter PC, Walsh M, Maw RD, Dinsmore WW. Detection of human papillomavirus by the polymerase chain reaction in histologically normal penile skin adjacent to penile warts. *Sex Transm Dis.* 1994; 21:83-8.

Weaver BA, Feng Q, Holmes KK, Kiviat N, Lee SK, Meyer C, Stern M, Koutsky LA. Evaluation of genital sites and sampling techniques for detection of human papillomavirus DNA in men. *J Infect Dis.* 2004; 15:189:677-85.

Werness BA, Levine Aj, Howley PM. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science.* 1990; 248:76-9.

Wideroff L, Schiffman MH, Hoover R, Tarone RE, Nonnenmacher B, Hubbert N, Kirnbauer R, Greer CE, Lorincz AT, Manos MM, Glass AG, Scott DR, Sherman ME, Buckland J, Lowy D, Schiller J. Epidemiologic determinants of seroreactivity to human papillomavirus (HPV) type 16 virus-like particles in cervical HPV-16 DNA-positive and-negative women. *J Infect Dis.* 1996; 174:937-43.

Wikström A, Hedblad MA, Johansson B, Kalantari M, Syrjanen S, Lindberg M, Von Krogh G. The acetic acid test in evaluation of subclinical genital papillomavirus infection: a comparative study on penoscopy, histopathology, virology and scanning electron microscopy findings. *Genitourin Med.* 1992; 68:90-9.

Wikstrom A, Popescu C, Forslund O. Asymptomatic penile HPV infection: a prospective study. *Int J STD AIDS.* 2000;11:80-4.

Yee C, Krishnan-Hewlet I, Schlegel CC, Howley PM. Presence and express of human papillomavirus sequences in human cervical carcinoma cell lines. *Am J Pathol.* 1985;119:361-66.

Zhou J, Frazer I. *Papovaviridae*: capsid structure and capsid protein function. In: Lacey, C. *Papillomavirus reviews: current research on papillomavirus*. London: Leeds University Press. 1996; p.93-100.

Zür Hausen H. Papillomavirus infections: a major cause of human cancer. *Biochem Biophys Acta*. 1996; 1288:F55-F78.

Zür Hausen H. Papillomaviruses and Cancer: from basic studies to clinical application. *Nature Cancer Rev*. 2002; 2:342-50.

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