



Universidade Federal do Amazonas
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Departamento de Apoio à Pesquisa
Programa de Iniciação Científica 2011/2012



**Evolução clínica de pacientes com HIV portadores de condilomas
anorretais tratados com sulfato de zinco oral em Instituição de Referência
no Amazonas**

Bolsista: Bruno de Queiroz Alves, FAPEAM

Manaus – 2012



Universidade Federal do Amazonas
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Departamento de Apoio à Pesquisa
Programa de Iniciação Científica 2011/2012



RELATÓRIO FINAL

PIB-S/0015/2011

**Evolução clínica de pacientes com HIV portadores de condilomas
anorretais tratados com sulfato de zinco oral em Instituição de Referência
no Amazonas**

Bolsista: Bruno de Queiroz Alves, FAPEAM

Orientadora: Adriana Gonçalves Daumas Pinheiro Guimarães

Manaus – 2012

Resumo

Depois da epidemia da aids nos anos 80, houve elevação da incidência do câncer anal com características epidêmicas, aumentando de 0,8 para até 70 casos em cada 100.000 habitantes entre homens que fazem sexo com homens (HSH) HIV positivos. Tanto o câncer anal quanto o cervical são precedidos pela neoplasia intra-epitelial. Muitos fatores de risco influenciam o desenvolvimento desta patologia, dentre os principais estão a infecção crônica pelo Papiloma Vírus Humano (HPV) e ser HIV positivo. Os condilomas acuminados são causados pelo HPV e apresentam uma prevalência de 15% nos adultos jovens dos EUA. Existem aproximadamente 200 tipos de HPV, e cerca de 30 afetam o trato anogenital sendo os mais frequentemente associados a câncer e neoplasia intra-epitelial os subtipos 16 e 18 enquanto os subtipos 6 e 11 estão relacionados à NIA leve e aos condilomas. Os pacientes HIV positivos apresentam risco elevado para o desenvolvimento de NIA em seus diversos graus de severidade e os condilomas anorretais são fatores predisponentes para a sua instalação e relacionados a elevadas taxas de recidiva nesta população. Este estudo objetivou conhecer a eficácia do tratamento com sulfato de zinco oral em pacientes HIV positivos portadores de condilomas anorretais. **Resultados:** Foram avaliados 32 pacientes HIV positivos oriundos do ambulatório de DST/AIDS. Quanto à infecção pelo HPV, 100% dos pacientes estavam infectados pelo vírus, sendo 93,5 % infectados pelo HPV de alto e baixo potencial oncogênico. Com relação ao tempo de infecção pelo HIV, 41% (13/32) dos pacientes receberam o diagnóstico há 01 ano ou menos, 28% (9/32) foram diagnosticados entre 13 e 24 meses, 16% (5/32) entre 25 e 71 meses e 16% (9/32) há 72 meses ou mais. No pós-tratamento, da região perianal, quando comparamos, a taxa de acometimento dos 4 quadrantes externos com a taxa de ausência de acometimento dos quadrantes externos, observamos que a taxa de ausência de lesões elevou de 15% (3/20) para 73% (11/15) e que a taxa de acometimento difuso (4 quadrantes) diminuiu de 17/20 (85%), no pré-tratamento, para 04/11 (27%) (p: 0.001). No pós-tratamento da região endoanal, observamos aumento do número de pacientes sem lesões no canal anal de 31% para 48% (11/23) e na taxa de lesão em um quadrante (de 22% para 35%) associado à redução do acometimento dos 4 quadrantes (de 28% para 17%) (p: 0.35). Quanto à análise histopatológica inicial (pré-tratamento), dos 32 pacientes estudados 69% (22/32) apresentaram NIA, estratificando os graus de gravidade da NIA, 50% (11/22) dos pacientes apresentaram NIA de baixo grau (NIA I) e 50% (11/22) apresentaram NIA grave (II/III). A análise histopatológica final (pós-tratamento) demonstrou 61% (11/18) de NIA, com 63% (7/11) de NIA I e 37% (4/11) de NIA II/III (p: 0.365). A resposta ao tratamento foi também classificada em satisfatória, parcial e insatisfatória. 57% (13/23) dos pacientes que completaram o protocolo obtiveram uma resposta satisfatória, 26% (6/23) responderam insatisfatoriamente e 17% (4/23) responderam parcialmente. **Conclusão:** A infecção pelo vírus HIV e o desenvolvimento de NIA estiveram associados à faixa etária mais precoce e a multiplicidade de parceiros sexuais. A infecção por múltiplos tipos de HPV de baixo e alto poder oncogênico estiveram associados aos condilomas de pacientes HIV positivos. O tratamento com sulfato de zinco oral mostrou eficácia no tratamento do condiloma, mas não foi capaz de reduzir as taxas de NIA associada. Devido à facilidade de emprego, baixo custo e tolerabilidade em pacientes HIV positivos, o sulfato de zinco representa terapia adjuvante recomendável no tratamento da doença condilomatosa endoanal e perianal.

Palavras Chave: Condiloma Acuminado, Papiloma Vírus Humano, HPV, Sulfato de Zinco, HIV Positivos, HIV, Neoplasia intra-epitelial anal, Câncer anal.

Lista de Figuras

Figura 1 Fluxograma de Execução	17
---------------------------------------	----

Lista de Quadros

Quadro 1 - Características clínicas dos grupos a serem estudados.....	15
---	----

Lista de Tabelas

Tabela 1 Relação entre idade e prática sexual.....	23
Tabela 2 Taxa de infecção pelo HPV de alto e baixo grau.....	24
Tabela 3 Características dos pacientes HIV positivos.....	25
Tabela 4 Taxa de resposta dos condilomas perianais ao sulfato de zinco.....	26
Tabela 5 Taxa de resposta dos condilomas endoanais ao sulfato de zinco	27
Tabela 6 Achados histopatológicos pré e pós-tratamento com sulfato de zinco	28
Tabela 7 Análise da gravidade da NIA em relação à prática do sexo anal receptivo (AR), níveis de células TCD4 e Tempo de TARV.	29

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	8
1.1. EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER ANAL.....	8
1.2. NEOPLASIA INTRA-EPITELIAL ANAL (NIA), OS GRUPOS DE RISCO E O CÂNCER	8
1.3. ESTRUTURA DO HPV E PATOGÊNESE VIRAL.....	9
1.4. USO E MECANISMO DE AÇÃO DO ZINCO NO TRATAMENTO DOS CONDILOMAS.....	9
2. JUSTIFICATIVA	11
3. OBJETIVOS	13
3.1. GERAL	13
3.2. ESPECÍFICOS	13
4. METODOLOGIA.....	14
4.1. MODELO DE ESTUDO	14
4.2. UNIVERSO DE ESTUDO	14
4.2.1. População de Estudo.....	14
4.2.2. Critérios de Elegibilidade	14
4.3. PROCEDIMENTOS	16
4.3.1. Coleta.....	16
4.3.2. Fluxograma de Execução.....	16
4.3.3. Anuscopia com Magnificação de Imagens (AMI) e Obtenção das Amostras Teciduais.....	17
4.3.4. Exérese dos condilomas e início da terapia oral com zinco	18
4.3.5. Diagnóstico Histológico	19
4.3.6. Detecção do HPV por Captura Híbrida	20
4.4. ANÁLISE DOS RESULTADOS	21
4.4.1. Amostra	21
4.4.2. Tratamento Estatístico	21
4.5. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6. CONCLUSÕES.....	34
7. REFERÊNCIAS	35
APÊNDICE	39
APÊNDICE A - EQUIPE CIENTÍFICA DE APOIO AO DESENVOLVIMENTO DO PIBIC	40
APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	41

1. Introdução

1.1.Epidemiologia do Câncer Anal

O câncer anal é uma patologia rara na população geral e que nas últimas décadas elevou-se cerca de trinta vezes em pacientes adeptos do sexo anal receptivo (AR); chegando, após a epidemia de síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), a níveis alarmantes com mais de 70/100.000 entre homens HIV positivos que fazem sexo com homens (HSH) (PALEFSKY et al., 1998).

Segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), em 2009, 539 homens e 1.078 mulheres foram notificados com a doença no Brasil. Não existem dados oficiais nacionais sobre a incidência de câncer anal em pacientes com HIV/AIDS.

1.2.Neoplasia Intra-epitelial Anal (NIA), os grupos de Risco e o Câncer

O epitélio portador de lesões intraepiteliais escamosas apresenta graus progressivos de anomalias de diferenciação celular e de maturação. Essas alterações são classificadas em leve ou neoplasias intra-epitelial escamosa de baixo grau (NIAI), moderadas (NIAII), e grave (NIAIII) (ABRAMOWITZ et al., 2007; APGAR; ZOSCHNICK, 2003; BANDEIRA et al., 2001).

O câncer anal é descrito como “malignidade associada a AIDS” ou “câncer oportunista” (MELBYE et al., 1994; FERNANDEZ, 2003), ocorrendo nestes indivíduos, cerca de duas décadas mais cedo que no grupo controle (NADAL et al., 2006). Segundo Fernandez (2003), a terapia antirretroviral de alta potência (TARV) não permite a completa restauração imune, fato que associado à prolongada exposição a vírus oncogênicos e a instabilidade genômica, pode resultar em prejudicada vigilância imune e subsequente elevação da incidência de tumores.

1.3.Estrutura do HPV e Patogênese Viral

O HPV é um vírus DNA onde cerca de 30 incidem no trato anogenital (BREESE et al, 1995). A associação de múltiplos tipos virais, incluindo os de alto risco, é comum nas verrugas anogenitais (VANDEPAPELIERE et al, 1997).

No Amazonas, a prevalência de NIA em pacientes HIV negativos variou de 13,5% a 33,3% (DAUMAS, 2007; COSTA E SILVA et al, 2011) e de 38,3% a 66,7% no grupo HIV positivo (DAUMAS, 2007; GIMENEZ et al, 2008; COSTA E SILVA et al, 2011).

Segundo Gunter (2003), a prevalência de condilomas genitais foi de 15% nos EUA e acredita-se que pelo menos 80% dos adultos sexualmente ativos sejam infectados pelo HPV em algum momento de suas vidas (HPV PROJECT, 2002; GUNTER, 2003). Sendo também a patologia anal mais comum em pacientes infectados pelo vírus HIV, com incidência variando entre 15,7 a 62%, e a mais elevada dentre homossexuais masculinos (MANZIONE; 2003).

A presença da infecção pelo papiloma vírus humano (HPV) está presente em mais que 80% das amostras dos tumores anais, sendo os tipos 16 e 18 os mais prevalentes (PALEFSKY et al., 1991; MARTINS, 2005).

1.4.Uso e mecanismo de ação do Zinco no Tratamento dos Condilomas

Vários estudos em humanos e animais têm demonstrado disfunção celular e humoral em todos os níveis de privação de zinco por grandes períodos (FRAKER et al, 1987; COUVREUR et al, 1986), alterações na imunidade celular (SAMPAIO et al, 2000), e hipoplasia tímica com repercussão na maturação das células T, resultando em deficiências imunológicas que favorecem as infecções (AL- GURAIRI et al, 2002).

Em seu estudo, Al-Gurairi et al (2002), observaram que 20 dos 23 pacientes obtiveram cura das lesões condilomatosas após dois meses do uso da droga. Testes de ação mostraram

que o zinco age inibindo a atividade catalítica do citocromo P450 (CP-450) de forma indireta, bloqueando a ação de suas enzimas de suporte como a citocromo-B5 (B5), NADPH-citocromo-P450 redutase (NCPR) ou a NADPH (KIM et al, 2005).

2. Justificativa

Após o surgimento da infecção pelo HIV e a AIDS, o câncer anal sofreu importante mudança em sua epidemiologia (RYAN et al, 2000; MODESTO et al, 1994), chegando a níveis epidêmicos (PALEFSKY et al., 1998; LYTWYN et al, 2005), sendo demonstrado também sua íntima relação com a infecção pelo HPV (FRISCH et al, 1999; GERVAZ, et al, 2003).

Em 2003, Manzione descreveu alguns fatores associados ao aumento da NIA em pacientes portadores de condiloma anal, dentre eles ser HIV positivos e adepto ao sexo anal receptivo, a presença de imunodeficiência, o estadiamento clínico avançado do HIV, a ocorrência de verrugas anais acima da linha denteada, contagem de linfócitos T CD4+ <500/mm³ e o tipo de HPV. Alguns relatos descreveram a incidência da NIA como ocorrente em 15 a 60% dos pacientes com condiloma, dos quais 29% apresentariam NIA de alto grau ou carcinoma in situ (MANZIONE, 2003). Estudos no Amazonas mostram a elevação da incidência da NIA e a ocorrência dos primeiros casos de câncer anal em pacientes HIV positivos em tratamento na unidade hospitalar de referência no Estado, a Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) (DAUMAS, 2007; GIMENEZ et al, 2008; COSTA E SILVA et al, 2011). A prevalência da infecção pelo HPV é significativamente elevada nestes indivíduos (COSTA E SILVA et al, 2011), bem como a ocorrência dos condilomas anorretais (ANCHIETA, 2009).

Na FMT-HVD, como na maioria dos serviços especializados, encontra-se implantado o programa de rastreamento da NIA e do câncer anorretal, porém as taxas de NIA continuam a ascender e o tratamento dos condilomas experimenta elevada taxa de recidiva e agressividade. Torna-se mister, portanto, a implementação de mudanças nas condutas terapêuticas visando o combate a recidiva dos condilomas e o conhecimento dos fatores que influenciam a elevada taxa de recidiva da doença experimentada por estes pacientes. No início

de 2009, após busca na literatura, instituimos o uso de sulfato de zinco no combate aos condilomas por sua ação indireta sobre o citocromo P-450.

Como fase inicial para os estudos de maior relevância científica, este trabalho pretenderá analisar uma série de casos a fim de descrever a evolução clínica de pacientes HIV positivos com condilomas anorretais que foram tratados com sulfato de zinco oral visando reduzir a frequência de recidivas dos pacientes do ambulatório de coloproctologia na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD).

3. Objetivos

3.1.Geral

Conhecer a eficácia do tratamento com sulfato de zinco oral em pacientes HIV positivos portadores de condilomas anorretais provenientes do ambulatório de coloproctologia na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD).

3.2.Específicos

- a) Estimar a frequência por lesão residual condilomatosa em pacientes portadores tratados com sulfato de zinco.
- b) Avaliar as taxas de NIA pós-tratamento com sulfato de zinco.
- c) Associar o tipo de HPV, quanto ao seu potencial de oncogenicidade, e a resposta ao tratamento com sulfato de zinco nos pacientes da casuística.

4. Metodologia

4.1. Modelo de Estudo

Estudo observacional descritivo do tipo série de casos.

4.2. Universo de Estudo

4.2.1. População de Estudo

Foram estudados pacientes do sexo masculino com AIDS associado ao histórico de condiloma anorretal que estavam recebendo terapia oral com zinco. A amostra é composta por pacientes encaminhados ao ambulatório de coloproctologia da FMT-HVD, provenientes dos ambulatórios de DSTs/AIDS e dermatologia.

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

4.2.2. Critérios de Elegibilidade

Pacientes do sexo masculino, HIV positivos, em uso do sulfato de zinco para tratamento dos condilomas acuminados anais. Os pacientes deveriam ter idade $\geq$ a 14 anos completos a até $\leq$ 60 anos, com consentimento de um dos pais ou responsável quando menores que 18 anos (Quadro 1). Os pacientes também não deveriam estar dentro dos critérios abaixo apresentados:

- a) portadores atuais de outras doenças oportunistas clinicamente e/ou laboratorialmente detectável relacionada à AIDS;

- b) outras doenças imunossupressoras;
- c) neutropênicos (< 500 céls x mm^3);
- d) em uso de drogas com efeito anticoagulante nos últimos quinze dias;
- e) plaquetopênicos (< 75000 céls x mm^3);
- f) incapazes mentalmente;
- g) portadores de quadro infeccioso bacteriano atual com repercussão clínica (sepse);
- h) indígenas;
- i) transplantados de órgãos sólidos em uso de imunossupressores;
- j) portadores de neoplasia maligna não associadas ao HIV/AIDS;
- k) pacientes com AIDS em uso de TARV por período inferior a 1 mês, ou
- l) que seu uso tenha sido irregular no último mês; e
- m) pacientes já em uso de drogas que bloqueiem a ação do citocromo P450, como: antibióticos macrolídeos (ex: eritromicina), antimicóticos azólicos (p. ex. cetoconazol), cimetidina, claritromicina, citalopram, fluoxetina, fluvoxamina, nefazodona, omeprazol, paroxetina, sertralina, venlafaxetina, flufenazina, paroxetina, quinidina, fenotiazinas e os antiarrítmicos tipo 1C propafenona e flecainida.

Quadro 1 - Características clínicas dos grupos a serem estudados

QUANTO AO HIV	QUANTO AO USO DO SULFATO DE ZINCO	QUANTO A RESPOSTA CLÍNICA
AIDS +	Zn +	SATISFATÓRIA
AIDS +	Zn +	INSATISFATÓRIA

Características clínicas dos grupos de estudo.

Legenda: AIDS: síndrome da imunodeficiência adquirida, AR: anorecepção e Zn: zinco.

4.3.Procedimentos

4.3.1. Coleta

A inclusão dos pacientes na pesquisa foi feita de forma contínua, no período de agosto de 2011 a janeiro de 2012, obedecendo aos critérios de elegibilidade. Na oportunidade foi aplicado o protocolo de estudo, onde foram compilados os dados socioculturais dos pacientes (Anexo B).

4.3.2. Fluxograma de Execução

Desde a chegada do paciente ao ambulatório de coloproctologia, os eventos da pesquisa estão detalhados na figura 1.

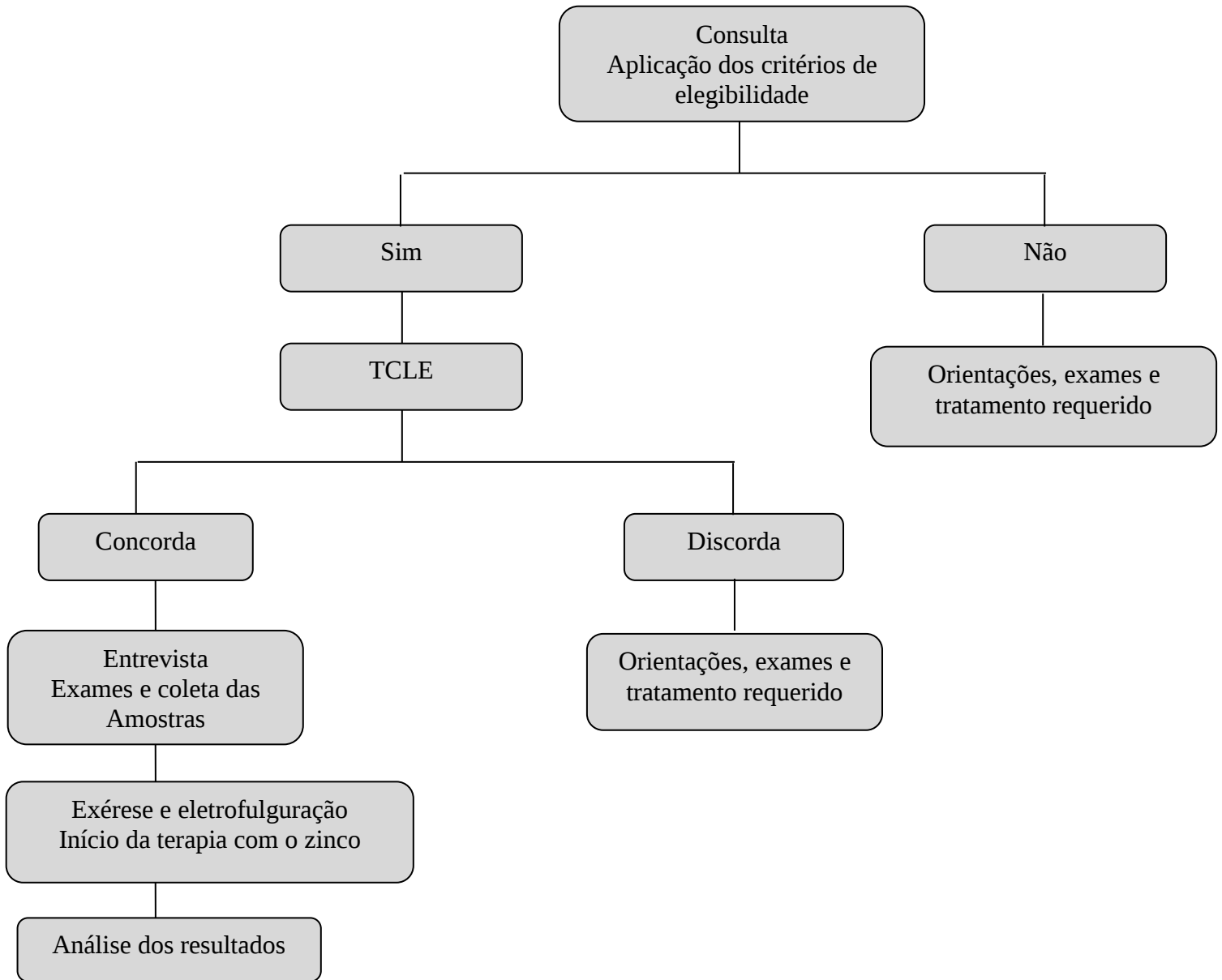


Figura 1 Fluxograma de Execução

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

Os pacientes selecionados foram submetidos à inspeção anal seguida da coleta de material citológico para a detecção do HPV, pelo teste de captura híbrida. A coleta citológica

foi feita através da rotação por 10X da escova cilíndrica estéril de nylon, específica, no canal anal, sobre a região pectínea (ROKA et al., 2008) e foi realizada na FMT-HVD.

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

4.3.4. Exérese dos condilomas e início da terapia oral com zinco

O procedimento foi aplicado aos pacientes com contagem de células TCD4 superiores a 250 células/mm³, e em pacientes sem evidência clínica de quadro infeccioso vigente.

Os pacientes, após a realização da AMI, foram submetidos à exérese dos condilomas sob anestesia local com lidocaína a 2% com vasoconstrictor. No caso de lesões envolvendo, de forma contínua, mais de um quadrante da circunferência anal, o procedimento cirúrgico de extirpação das verrugas era feito em etapas mensais, quadrante a quadrante, até que toda a área esteja livre das lesões. O fato de termos decidido pela realização da eletrofulguração no hospital-dia foi por haver poucos especialistas na rede pública estadual ocasionando filas de espera inaceitáveis a este grupo de doentes mais susceptíveis a progressão da NIA.

Após a extirpação das lesões com tesoura cirúrgica, as mesmas foram cauterizadas com eletrocautério na potência média (entre 4 e 6). A cauterização visava não apenas a hemostasia, mas também a destruição das inclusões virais no epitélio basal.

Imediatamente após o procedimento inicial de eletrofulguração, o paciente recebeu, se cumprido os critérios de elegibilidade, a receita para a aquisição do sulfato de zinco na dose de 10mg/kg/dia, com dose máxima de 600mg/dia a ser tomado em 03 tomadas diárias, por 90 dias consecutivos. Os pacientes foram submetidos a seguimento clínico mensal para continuação da eletrofulguração, se for o caso, ou busca ativa das recidivas seguida de cauterização, térmica ou com ácido tricloroacético a 60%, este último quando apenas poucas lesões na região perianal foram detectadas ou restaram.

Ao final do tratamento com zinco, após 90 dias, os pacientes com resposta terapêutica foram submetidos à biópsia orientada por AMI para avaliar o grau de NIA residual. Os pacientes que apresentaram recidivas foram submetidos à exérese das lesões e a novo ciclo do medicamento, com a mesma dose por mais noventa dias. No caso de recidiva no sexto mês de acompanhamento, o paciente fora novamente submetido à ressecção cirúrgica e considerado como portador de resposta insatisfatória ao sulfato de zinco.

Tanto o diagnóstico inicial quanto as recidivas foram computadas por quadrantes da seguinte forma: recidiva em apenas um quadrante, em dois, três ou mais quadrantes, e se a lesão era apenas na região perianal, de margem anal, endoanal ou combinada.

4.3.5. Diagnóstico Histológico

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

4.3.6. Detecção do HPV por Captura Híbrida

Os testes para detecção dos grupos de risco do HPV foram feitos por captura híbrida II, onde eram detectados os HPV de maior relevância designados segundo o potencial oncogênico no câncer anal. As amostras foram analisadas para os seguintes subtipos de HPV: baixo risco: 6, 11, 41, 42, 43 e alto risco: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 (ROKA et al., 2008).

As amostras foram processadas de acordo com o protocolo do fabricante (DIGENE, 2008), e tiveram como princípio a detecção, via sonda, do ácido nucléico híbrido RNA-DNA específicos para os subtipos do HPV de baixo e alto grau previstos. O RNA-DNA híbrido foi marcado com anticorpo fluorescente e emitiu luz que era capturada pelo luminômetro como unidade de luz relativa (*relative light units*) (RLU). O limite de ≥ 1 pg/ml RLU do HPV 16 foi utilizado como controle positivo. Além dos resultados negativo, positivo de baixo ou alto risco para o HPV, a carga viral também foi estimada pelos níveis da RLU. Etapas de detecção por captura híbrida: Fase de Desnaturação: Foram feitas alíquotas de 500µl de reagente de desnaturação no tubo com amostra e homogeneizadas no vórtex. As amostras deveriam se tornar púrpuras e as tampas de pressão deveriam ser trocadas pelas roscas e o material incubado a 65°C por 45 minutos. Fase de Hibridização: Foram feitas alíquotas de 25µl de sonda e 75µl de amostra e colocadas no microtubo, cobertas com *Plate Sealers* e homogeneizadas a 1.100 rpm por 2 minutos. A coloração deveria se tornar amarela. Incubadas a 65°C por 60 minutos. Fase de Captura dos Híbridos: Todo o material era transferido para a microplaca, centrifugados a 1.100 rpm por 60 minutos a 20-25°C. Fase de Reação com o conjugado: O conteúdo da microplaca era desprezado, adicionado 75µl de reagente de detecção 1 em cada micropoço e incubados a 20-25°C por 30 minutos. As microplacas eram lavadas 6 vezes. Fase de Amplificação de Sinais: Adicionados 75µl de reagente de detecção 2

em cada micropoço e incubados a 20-25°C por 15 minutos. Fase de leitura por quimioluminescência: introduzido a microplaca no dml-2000 e realizado a leitura.

4.4. Análise dos Resultados

4.4.1. Amostra

Foram coletadas amostras histológicas da região anorretal que apresentou maior suspeita clínica da ocorrência de displasia à anoscopia magnificada.

4.4.2. Tratamento Estatístico

Os dados foram registrados em um banco de dados. Inicialmente foram utilizados métodos de análises descritivas. Os resultados foram tratados estatisticamente, onde as variáveis categóricas foram submetidas a contagem e percentagens, e comparadas entre os subgrupos através do teste de *Qui-quadrado* ou do *Teste exato de Fisher* e construídas matrizes de 2x2 ou RXS, conforme indicado. As variáveis contínuas foram avaliadas através da média, mediana e desvio-padrão.

Os subgrupos clínicos de interesse, objetivando uma melhor caracterização dos casos, eram: **pacientes HIV positivos com aids** (aqui definidos como pacientes que tenham apresentado uma ou mais doenças definidoras de AIDS, que apresentem contagem de linfócitos TCD4 inferior a 200, ou seja, classificados como C3). Os subgrupos foram ainda estudados quanto à **prática do sexo anal receptivo, quanto ao potencial oncogênico do grupo HPV e quanto à ocorrência e o grau da NIA**. As diferenças foram consideradas significantes quando o valor p for $\leq 0,05$, e as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa R® versão 2.14.2- 2012 (R-TEAM, 2012).

4.5.Considerações Éticas

Em obediência a resolução n. 196 de 10 de outubro de 1996 e emendas, este estudo somente teve início após a aprovação do comitê de ética em pesquisa (TCLE) da FMT-HVD.

Os pacientes receberam os esclarecimentos quanto aos objetivos do estudo, riscos e benefícios da pesquisa. Os que concordaram, assinaram o TCLE (Apêndice A), ficando-lhes assegurado o caráter confidencial dos dados e o recebimento de uma cópia do TCLE contendo o telefone de contato e a assinatura do pesquisador responsável.

5. Resultados e Discussão

No presente estudo, foram analisados no ambulatório de coloproctologia da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), unidade de referência para o tratamento de pacientes HIV no Amazonas, 32 pacientes HIV positivos oriundos do ambulatório de DST/AIDS, por serem portadores de condiloma perianal e/ou endoanal.

Todos os pacientes estudados eram do sexo masculino, com média de idade de 30,3 (mediana: 27; desvio padrão $\pm 9,7$ anos). Quanto ao início da atividade sexual, 31% (10/32) dos pacientes a iniciaram entre 10 e 14 anos, 53% (17/32) entre 15 e 19 anos, e 16% (5/32) com 20 anos ou mais (Dados não demonstrados em tabela (DNDT)). Quanto às preferências sexuais, 81% (26/32) dos pacientes se declararam homossexuais ou bissexuais e 19% (6/32) se declararam heterossexuais. 26 (81%) pacientes eram adeptos da prática do sexo anal receptivo. A tabela 1 demonstra a relação entre AR e a idade. Os pacientes AR positivos eram em média 9 anos mais jovens do que os AR negativos ($p: 0.7662$). A faixa etária jovem reflete justamente a faixa mais sexualmente ativa e, portanto mais exposta e acometida por DST e queixas proctológicas nos adeptos à prática do sexo anal receptivo (AR).

Tabela 1 Relação entre idade e prática sexual

Variáveis		Idade (anos)			p = 0.7662
AR	N	Média	Desvio-Padrão	Mediana	
Sim	26 (81%)	28,73	8,83	26	
Não	6 (19%)	37,5	10,67	39	

Teste: Fisher

Quanto ao número de parceiros sexuais 16% (5/32) dos pacientes referiram terem tido apenas um parceiro nos últimos cinco anos, 53% (17/32) relataram entre 2 e 9 parceiros, e 31% (10/32) 10 ou mais parceiros. Em relação ao histórico de doenças sexualmente transmitidas (DST), 68,75 % afirmaram terem sido contaminados previamente com algum tipo de DST, sendo esta DST em 12% (4/32) dos casos, a gonorreia, em 31% (10/32) o HPV,

em 25% (8/32) outras DSTs e 31% (10/31) negaram DSTs prévias (DNDT). A maior probabilidade de aquisição do HIV via sexo anal já é bem determinada (DALING et al, 1987, 2004; KREUTER et al, 2005), e Sobhani et al (2001) descreveram a heterossexualidade como fator de proteção à aquisição do HIV.

Quanto aos diversos fatores de risco aqui apresentados, nossos estudos são concordantes com os de Pokomandy et al (2011), que descreveram que os tipos de HPV, a história sexual de mais de 10 parceiros sexuais e a presença do HIV são fatores preditivos para o desenvolvimento de NIA grave (graus II e III).

Quanto à infecção pelo papiloma vírus humano (HPV), 100% dos pacientes estavam infectados pelo vírus, segundo a análise por captura híbrida. Quando estratificamos a análise pelo potencial de oncogenicidade do HPV, observamos que a taxa de infecção isolada pelo HPV de baixo risco e de alto foi de 3,2% (1/31) e por ambos os tipos foi de 93,5 % (29/31) (Tabela 2). Segundo Palefsky et al (1998), pacientes HIV positivos possuem uma prevalência elevada de HPV (93%) e chance seis vezes maior de desenvolver a forma clínica da doença. Sobhani et al (2001) descreveram também a maior prevalência de HPV oncogênico nos pacientes HIV positivos (p: 0.04). Daumas et al (2012) e Hada (2011) em estudo realizado na mesma Instituição descreveram taxa de infecção pelo HPV de 89,5%.

Tabela 2 Taxa de infecção pelo HPV de alto e baixo grau

Variáveis					p = 0.3548
HPV (risco)	N	Média	Desvio-Padrão	Mediana	
Baixo	1 (3,2%)	49	-	-	
Alto	1 (3,2%)	24	-	-	
Alto e Baixo	29 (93,5%)	30,24	9,32	28	

Teste: Fisher

Com relação ao tempo de infecção pelo HIV influenciar a ocorrência de condiloma, 41% (13/32) dos pacientes receberam o diagnóstico há 01 ano ou menos, 28% (9/32)

receberam o diagnóstico entre 13 e 24 meses, 16% (5/32) entre 25 e 71 meses e 16% (9/32) há 72 meses ou mais (Tabela 3). 78% (25/32) dos pacientes com condiloma utilizavam a terapia antirretroviral específica (TARV) destes, 64% (16/25) faziam uso das drogas 23 meses ou menos, 20% (5/25) entre 24 e 71 meses, e 16% (4/25) há mais de 72 meses. Quanto ao esquema terapêutico utilizado, 44% (11/25) faziam uso de biovir e efavirenz, 28% (7/25) de kaletra e biovir, 12% (3/25) utilizavam biovir, ritonavir e atazanavir e 6% (4/25) utilizavam outras associações terapêuticas.

Tabela 3 Características dos pacientes HIV positivos

Tempo de diagnóstico (HIV) (02-132m); n: 32	<24 m n: 22 (69%) md: 18; Sd: 6.46		>25m n: 10 (31%) md: 66; Sd: 36.10			
Linfócitos TCD4⁺ n: 32	<250 cel./µl n: 18 (56.3%) md: 163.3 Sd: 74.24		> 251 cel./µl n: 14(43.7%) md: 393.14 Sd: 116.84			
TARV n: 32	SIM n: 25 (78%)		NÃO n: 07 (22%)			
Tempo de uso da TARV n: 32	2 – 23m n: 17 (68%)		>24m n: 8 (32%)			
Drogas (HAART) n: 32	Biovir+Efavirenz n: 11 (44%)	Kaletra + Biovir n: 07 (28%)	Biovir + Ritonavir + Atazanavir n: 03 (12%)		Outras Assoc. n: 04 (16%)	
ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA n: 32	Sem Alt. n: 02 (6%)	Infl. n: 04 (13%)	Pat. Beng. n: 03 (9%)	Metapl. n: 01 (3%)	NIA n: 22 (69%)	Ca. n: 0 (0%)

Teste: Fisher

Na avaliação inicial, quantificamos os quadrantes acometidos por condilomas na **região perianal (pré-tratamento)** e observamos que mais de 50% (17/32) dos pacientes apresentavam acometimento condilomatoso em todos os quadrantes externos, 9,4% (3/32) não possuíam nenhuma lesão perianal (inclusos no estudo por possuírem lesões condilomatosas de canal anal), 18,8% (6/32) possuíam lesão em apenas um quadrante, 9,4% (3/32) possuíam lesões em dois quadrantes e 9,4% (3/32) em três. Após o tratamento com sulfato de zinco

(10mg/kg durante 90 dias), 09 pacientes não retornaram para realizar a segunda biópsia (pós-tratamento). Na reavaliação observamos elevação na taxa de ausência de lesões nos quadrantes externos que subiu para 47,8% (11/23), 17,4% (4/23) possuíam lesão em apenas um quadrante, 8,7% (2/23) possuíam lesões em dois quadrantes, 8,7% (2/23) em três quadrantes e ainda regressão acentuada da taxa de acometimento difuso (4 quadrantes) de 53,1%, para 17,4% (4/23) (p: 0.83) (DNDT).

Quando comparamos, no pós-tratamento a taxa de acometimento dos 4 quadrantes externos com a taxa de ausência de acometimento dos quadrantes externos, observamos que a taxa de ausência de lesões nos quadrantes externos se elevou para 73% (11/15) e que a taxa de acometimento difuso (4 quadrantes) diminuiu de 17/20 (85%), no pré-tratamento, para 04/11 (27%) (Tabela 4) (p: 0.001).

Tabela 4 Taxa de resposta dos condilomas perianais ao sulfato de zinco

Variáveis	p-valor			
	Pré-Tratamento		Pós-Tratamento	
	n	%	N	%
0 Quadrante	3	15	11	73
4 Quadrantes	17	85	4	27
Total	20	100	15	100

Teste: *Fisher*

Quanto aos quadrantes acometidos por condilomas na **região endoanal** na avaliação inicial (**pré-tratamento**) e a resposta observada após o tratamento proposto, observamos que inicialmente 31% (10/32) dos pacientes não possuíam lesão endoanal, 22% (7/32) possuíam lesão em apenas um quadrante, 19% (6/32) possuíam lesões em dois quadrantes e 28% (9/32) apresentavam lesão nos quatro quadrantes. **No pós-tratamento**, observamos aumento do número de pacientes sem lesões no canal anal (de 31% (10/32) para 48% (11/23)) e na taxa de lesão em um quadrante (de 22% (7/32) para 35% (8/23)) e redução do acometimento dos 4

quadrantes (de 28% (9/32) para 17% (4/23)). No pós-tratamento não houve acometimento endoanal de três quadrantes (Tabela 5) (p: 0.35).

Tabela 5 Taxa de resposta dos condilomas endoanais ao sulfato de zinco

Variáveis	p-valor			
	Pré-Tratamento		Pós-Tratamento	
	N	%	N	%
0 Quadrante	10	31	11	48
1 Quadrante	7	22	8	35
2 Quadrantes	6	19	-	-
4 Quadrantes	9	28	4	17
Total	32	100	23	100

Teste: *Fisher*

Quando comparamos, pós-tratamento, apenas as taxas de acometimento dos 4 quadrantes endoanal com a taxa de ausência de acometimento dos quadrantes endoanal observamos aumento do número de pacientes sem lesões de canal anal (de 52,63% (10/19) para 73% (11/15)) e diminuição da taxa de acometimento dos 4 quadrantes (de 47,37% (9/19) para 27% (4/15)), porém as alterações não foram significativas (p: 0.38) (DNNDT).

As amostras dos pacientes foram submetidas a análises histopatológicas que foram revisados através de reunião de consenso envolvendo no mínimo dois patologistas, sendo um deles *senior*. Quanto à análise inicial (pré-tratamento), dos 32 pacientes estudados, 6% (2/32) apresentaram laudos normais, 13% (4/32) apresentaram patologias inflamatórias inespecíficas, 9% (3/32) outras patologias benignas (como hemorroidas e fístulas), 3% (1/32) apresentaram metaplasia e 69% (22/32) apresentaram NIA. Houve ainda 01 caso de doença de Bowen (Tabela 6). Nossas taxas de NIA, apesar de elevadas, foram superiores as descritas por Abramowitz et al (2007), Gimenez et al. (2008) (42,8%), Daumas et al (2012) (53.8%).

Tabela 6 Achados histopatológicos pré e pós-tratamento com sulfato de zinco

Variáveis	Pré-Tratamento		Pós-Tratamento		p-valor
	n	%	n	%	
Laudos Normais	2	6	11	47,3	0.35
Pat. Inflamatórias	4	13	8	35	
Pat. Benignas	3	9	0	0	
Metaplasia	1	3	0	0	
NIA	22	69	4	17,4	
Total	32	100	23	100	

Legenda: Pat: patologia.

Teste: *Fischer*

Quanto ao grau de gravidade da NIA, 50% (11/22) dos pacientes apresentaram NIA de baixo grau (NIA I) e 50% (11/22) apresentaram NIA grave (II/III), demonstrando semelhanças com as taxas descritas por Kreuter et al (2010), os quais foram de 36,5% de NIA I e 35% NIA III. Os dados na literatura são discordantes já que Abramowitz et al (2007) descreveram 96,7% (59/61) de NIA I/II e apenas 3,3% de NIA III. No Brasil, Manzione et al (2003) também descreveram taxas discretas de NIA grave (18,56%). Dados tão discrepantes podem ser explicados pelo fato que em alguns estudos as taxas de NIA moderada (NIA II) são agrupadas às taxas de NIA leve, conforme no estudo de Abramowitz et al (2007), já em outros, como o nossos e de diversos autores, tais taxas são somadas às taxas de NIA grave, por entendermos que a progressão à forma mais grave ser a que mais preocupa a comunidade científica, mantendo assim, estes pacientes sob vigilância mais restrita.

No **pré-tratamento**, observamos que 10 (90,9%) dos 11 pacientes com NIA grave eram AR positivos, mas também que 9/10 pacientes sem NIA eram AR positivos (p: 0.31) (Tabela 7). A falta de correlação entre AR e NIA neste estudo decorre provavelmente do baixo percentual de pacientes AR negativos na Instituição estudada e, por conseguinte na amostra. Em estudo prévio Daumas et al (2007) também não encontrou correlação entre AR e

NIA assim como Sobhani et al (2001; 2002), contrariando os achados de Daling et al (1987). Quanto às taxas de NIA grave, Palefsky et al (2005), descreveram, na mesma população, taxas concordantes, porém inferiores as aqui descritas (52% de NIA III em HSH). Daumas et al (2007) e Chin-Hong et al (2005) que descreveram taxas de NIA III em pacientes AR positivos de 12,7% e 5% respectivamente.

Tabela 7 Análise da gravidade da NIA em relação à prática do sexo anal receptivo (AR), níveis de células TCD4 e Tempo de TARV.

GRAUS DE NIA (Pré-Tratamento)								p-valor
Variáveis	AUSENTE		NIA I		NIA II / NIA III		Total	
	N	%	N	%	n	%		
AR								
Não	1	10	4	36.3	1	9.09	6	0.31
Sim	9	90	7	63.6	10	90.9	26	
	10	100	11	100	11	100	32	
CD4								
Ate 100	0	0	2	18.2	1	9.1	3	0.5
101 a 250	5	50	6	54.5	4	36.3	15	
251 a 500	4	40	1	9.1	5	45.4	10	
>500	1	10	2	18.2	1	9.1	4	
	10	100	11	100	11	100	32	
Tempo TARV								
Ate 24 meses	7	87.5	3	33.3	7	87.5	17	0.036
>25 meses	1	12.5	6	66.6	1	12.5	8	
	8	100	9	100	8	100	25	

Teste: Fisher

Quanto à influência dos linfócitos TCD4⁺, observamos que os pacientes sem NIA apresentavam níveis de linfócitos TCD4⁺ superiores a 100 células/mm³ e que 100% (n: 03) dos pacientes com TCD4⁺ <100 células/mm³ apresentaram NIA (sendo 02 casos de NIA I e 01 caso de NIA grave) (p: 0.5) (Tabela 7). Nossos dados, provavelmente pelo tamanho da amostra, discordam dos dados descritos por Scott et al. (2008), que numa análise multivariada, verificaram que linfócitos TCD4⁺ abaixo de 200 céls/mm³ constituíram fator de risco para NIA, com OR de 2,6 e p: 0.01. Os dados são reafirmados pelo estudo de

Pokomandy et al (2011) que descreveram, em pacientes com níveis de linfócitos TCD4+ < 50 antes do início da TARV, 14 vezes mais chances de desenvolver NIA grave (II e III). Tais achados permitiram que os autores concluíssem que a presença de infecção pelo HPV oncogênico, em especial o HPV 16 e o HPV 18, associados a baixos níveis de linfócitos TCD4+, aumentam o risco da ocorrência de NIA grave (OR: 14,18).

Abramowitz et al (2007) afirma que indivíduos com níveis de linfócitos TCD4+ inferiores a 200×10^6 células/l apresentam 22 vezes mais chances de desenvolverem condilomas. Em nosso estudo os pacientes que mais responderam tinham linfócitos TCD4+ superior a 100.

Quanto ao tempo de uso de TARV, a média foi de 44 meses de TARV (variação de 12 meses a 108 meses), 66% (6/9) dos pacientes em uso da TARV há mais de 25 meses apresentaram NIA I, já entre os pacientes em uso da TARV a menos de 24 meses, 87.5% (n: 07) apresentaram NIA II/III (p: 0.036) apontando para um possível papel protetor da TARV. Segundo Daumas et al (2012) pacientes com diagnóstico de **aids** em uso regular da TARV, NIA+ e AR+ apresentaram *status* imune sistêmico e tecidual semelhante aos observados em indivíduos HIV negativos sem comorbidades. Porém, Pokomandy et al. (2011) descreveram que apesar da reconstituição do sistema imune advinda do uso dos antivirais, déficits imunológicos associados ao HPV persistem em indivíduos que recebem a TARV; e segundo Singh et al (2009) e outros autores apoiam a corrente de que a introdução da TARV não tem tido um efeito sobre o HPV e, por conseguinte sobre as taxas de NIA, traduzido, nos principais centros, pelo aumento da incidência de câncer anal na era pós-TARV.

Quanto ao uso do sulfato de zinco, 75% (18/24) dos pacientes o utilizaram por 90 dias, e 16,7% (4/24) tiveram a medicação estendida por mais 90 dias devido à resposta insatisfatória com o primeiro ciclo da droga. Após o novo ciclo, 01 paciente apresentou resposta completa (cura do condiloma) e os 3 restantes obtiveram respostas parciais. A taxa de

não adesão ao tratamento foi de 8,3% (2/24). Analisando os efeitos colaterais do zinco observamos que 62% (15/24) dos pacientes não apresentaram quaisquer efeitos colaterais, 38% (9/24) apresentaram náuseas ou vômitos (01 paciente). A taxa de abandono do tratamento foi de 8,33% (2/24) e segundo os pacientes, decorrente dos efeitos colaterais da medicação.

Buscamos avaliar a eficácia da terapia oral com sulfato de zinco (10 mg/Kg/dia) no tratamento coadjuvante dos condilomas anais e perianais, utilizamos outra ferramenta onde classificamos a resposta ao tratamento em **satisfatória** quando houve regressão completa das lesões ou lesão residual detectada em apenas 1 quadrante (em pacientes com lesão inicial nos 4 quadrantes), **parcial** quando houve taxa de redução da doença de 50% ou menos, dos quadrantes inicialmente acometidos e **insatisfatória** quando não houve regressão da doença ou quando houve piora clínica, em relação aos quadrantes inicialmente acometidos. 57% (13/23) dos pacientes que completaram o protocolo tiveram uma resposta satisfatória, 26% (6/23) obtiveram uma resposta insatisfatória e 17% (4/23) responderam parcialmente (DNDDT). Segundo Singh et al (2009), a NIA II/III é conhecida como um precursor do carcinoma invasivo com uma taxa de progressão de NIA para o câncer de células escamosas de 11% em 42 meses de seguimento, e apesar de NIA possuir baixas taxas de progressão para malignidade, pode ser observado que em torno de 62% do HIV positivos e 26% dos HIV negativos progridem para NIA II/III. Em seu estudo Singh et al (2009) de 28 pacientes com NIA II ou III 32% apresentaram regressão completa da NIA e 29% regrediram para NIA I. Em nosso estudo, as taxas foram semelhantes. Dos 11 pacientes inicialmente diagnosticados com NIA II/III, 27% (3/11) evoluíram para cura completa, 18% (2/11) regrediram para NIA I, 27% (3/11) não tiveram mudanças e 27% (3/11) não se submeteram a segunda biópsia.

Neste estudo, nossos pacientes demonstraram resposta à terapêutica com sulfato de zinco inferior ao estudo de Yaghoobi et al. (2009) que descreveram 53,3% de resposta

completa ao zinco com 30 dias de tratamento e que ao estender a terapia por mais 30 dias à responsividade aumentou para 78,1%, estudo este realizado nas regiões de pés, mãos e face de pacientes HIV negativos. Dados muito semelhantes aos descritos por Yaghoobi et al (2009) são descritos por Sadighha et al. (2009) num estudo com desenho semelhante. Yaghoobi et al (2009) e Sadighha et al (2009) são também corroborados por Mun et al. (2011) onde o emprego do sulfato de zinco oral para o tratamento de condilomas das regiões de pés, mão e faces em pacientes HIV negativos demonstrou marcante eficácia terapêutica com uma taxa de resposta completa de 62,5 a 86,9 %. Estudo estes que utilizaram grupo controle com doses randomizadas de placebo e dosagens do zinco sérico nas diversas fases do tratamento.

Quanto à terapia tópica dos condilomas, segundo Singh et al (2009) o tratamento com o ácido tricloroacético (ATA), uma das terapias citotóxicas aceitas para o tratamento de condilomas, é considerada como primeira linha de tratamento. Em seus estudos, a taxa de regressão total das lesões após cinco aplicações de ATA foi de 81% com 36% de recidiva após dois meses de tratamento. Ainda segundo Singh et al (2009) a coagulação infravermelha é capaz de curar 72% das lesões NIA II e III de pacientes homens que fazem sexo com homens, porém com taxas de recidiva elevadas (65 %).

Quanto à análise histopatológica final (**pós-tratamento**) da amostra anal, para avaliar a possível regressão da lesão e eficácia do tratamento, dos 18 pacientes estudados, 17% (3/18) apresentaram laudos normais, 22% (4/18) apresentaram patologias inflamatórias não específicas e 61% (11/18) apresentaram NIA dos quais 63% (7/11) eram NIA I e 37% (4/11) eram NIA II/III (p: 0.365) (DNDT). Não houve, portanto, regressão significativa das taxas de NIA após o uso do zinco, mostrando que a eficácia da droga limita-se a regressão das lesões condilomatosas, mas não a regressão do potencial de neoplasia intra-epitelial anal e sua progressão. Porém novos estudos de seguimento e com maior número de pacientes serão

conduzidos, para avaliarmos o real papel do zinco oral, em indivíduos HIV positivos portadores de NIA.

Este é o primeiro estudo nacional que descreve a eficácia e os sintomas associados ao uso de Sulfato de Zinco oral no tratamento de condilomas acuminados e da neoplasia intra-epitelial anal. Porém, são necessários estudos futuros randomizados prospectivos com maior duração e número de pacientes para se determinar a eficácia do zinco no tratamento de NIA.

Este estudo apresentou como limitações o tamanho da amostra, o curto prazo de acompanhamento dos pacientes que não permitiu a avaliação das taxas de recidiva e ainda a falta de um grupo controle que proporcionasse conclusões mais sólidas a respeito da população de estudo.

6. Conclusões

A infecção pelo vírus HIV e o desenvolvimento de neoplasia intra-epitelial anal (NIA) estiveram associados à idade mais precoce e a multiplicidade de parceiros sexuais.

Condilomas acuminados devem ser prontamente tratados devido à taxa de associação com a NIA grave.

Uma multiplicidade de vírus HPV de baixo e alto poder oncogênico estiveram associados ao condilomas de pacientes HIV positivos.

Em pacientes HIV positivos portadores de condiloma perianal e endoanal, o tratamento com sulfato de zinco mostrou eficácia no tratamento do condiloma, mas não foi capaz de reduzir satisfatoriamente as taxas de NIA associada.

Devido à facilidade de emprego, baixo custo e tolerabilidade em pacientes HIV positivos, o sulfato de zinco representa terapia adjuvante recomendável no tratamento da doença condilomatosa endoanal e perianal.

7. Referências

- ABRAMOWITZ, L.; BENABDERRAHMANE, D.; RAVAUD, P.; WALKER, F.; RIOUX, C.; JESTIN, C.; BOUVET, E.; SOULÉ, J.C.; LEPORT, C.; DUVAL, X. Anal squamous intraepithelial lesions and condyloma in HIV-infected heterosexual men, homosexual men and women: prevalence and associated factors. *AIDS*, 2007; 21: 1457-65.
- AL-GURAIRI F.T.; AL-WAIZ, M.; SHARQUIE, K.E. Oral zinc sulphate in the treatment of recalcitrant viral warts: randomized placebo- controlled clinical trial, *Br J Dermatol*, 2002, 146/423-31.
- ANCHIETA, J.C.J. Estudo da variação da densidade das células dendríticas da região anal de pacientes portadores de condiloma acuminado infectados pelo HIV, atendidos no Ambulatório de Coloproctologia da Fundação de Medicina Tropical do estado do Amazonas (FMTAM). In: CONIC, 18, 2009, Manaus.
- APGAR, B.S.; ZOSCHNICK, L. The 2001 Bethesda System Terminology, *American Family Physician*, 2003, 68(10): 1992-8.
- BANDEIRA, C.B., et al. Manejo das lesões suspeitas de neoplasia cervical, *Revista Técnico-científica do grupo hospitalar Conceição*, 2001, 14(1).
- BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.N.; NETO, A.G.F. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. 1 ed. São Paulo: EDART, 1976.
- BREESE, P. L., et al. 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.
- CHIN-HONG, P.V.; VITTINGHOFF, E.; CRANSTON, R.D.; BROWNE, L.; BUCHBINDER, S.; COLFAX, G.; DA COSTA, M.; DARRAGH, T.; BENET, D.J.; JUDSON, F.; KOBLIN, B.; MAYER, K.H.; PALEFSKY, J.M. Age-related prevalence of anal cancer precursors in homosexual men: the EXPLORE study. *J Natl Cancer Inst*. 2005 Jun 15; 97(12):896-905.
- COSTA E SILVA, I.T. Lesões Precursoras do Câncer Anal em Receptores de Transplantes Renais Acompanhados em Manaus (AM), Dissertação UFAM 2006, Manaus, Brasil: Universidade Federal do Amazonas, 2006.
- COSTA E SILVA, I.T. et al. Anal cancer precursor lesions in HIV-positive and HIV-negative patients seen at a tertiary health institution in Brazil. *Acta Cir. Bras.*, São Paulo, v. 26, n. 1, Feb. 2011.
- COUVREUR, Y., et al. Zinc deficiency and lymphocyte subpopulations, a study by flow cytometry, *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 1986, 10:239-41.
- DALING, J.R.; WEISS, N.S.; HISLOP, G.; MADEN, C.; COATES, R.J.; SHERMAN, K. J.; ASHLEY, R.L.; BEAGRIE, M.; RYAN, J.A.; COREY, L. Sexual practices, sexually transmitted diseases, and the incidence of anal cancer. *The New England Journal of Medicine*, v. 317, n. 16, p. 973-7, 1987.

DALING, J.R.; MADELEINE, M.M.; JOHNSON, L.G.; SCHWARTZ, S.M.; SHERA, K.A.; WURSCHE, M.A.; Carter, J.J.; PORTER, P.L.; GALLOWAY, D.A.; McDOUGALL, J.K. Human papillomavirus, smoking, and sexual practices in the etiology of anal cancer. *Cancer* 2004; 101: 270–280.

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

DAUMAS, A.G.P.G. Coinfecções virais e o perfil imunológico de pacientes hiv positivos portadores de neoplasia intraepitelial anal (dissertação doutorado), Manaus (AM): Universidade do Estado do Amazonas/ Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, No Prelo 2012.

DIGENE BRASIL. Disponível em:<http://www.digene.com.br/menu/capturahibrida/textoprotoctolohpv.asp>. Acesso em 18/11/2008 às 17:59h.

FERNANDEZ, N.J. Data Review. 2003 - Cancer in HIV-infected population. Disponível em: < http://goliath.ecnext.com/coms2/browse_R_R042>. Acesso em 03/08/2007

FRAKER, P.J.; JARDIEU, P.; COOK, J. Zinc deficiency and immune function, *Arch Dermatol*, 1987,123:1699-701.

FRISCH, M., et al. Variants of squamous cell carcinoma of the anal canal and perianal skin and their relation to human papillomaviruses, *Cancer Res* 1999, 59:753-7.

GERVAZ, P., et al. Squamous cell carcinoma of the anus: another sexually transmitted disease, *Swiss Med Wkly*, 2003, 133:353-9.

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

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

HADA, A.L. Detecção das taxas de infecção por HPV de baixo e alto potenciais oncogênicos e a relação com a lesão intraepitelial anal em pacientes HIV positivos atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas. In: CONIC, 20, 2011, Manaus.

INCA, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/anal>. Acesso em 20/14/2010; 23:27h.

KIM, J. S.; YUN, C. H. Inhibition of human cytochrome P450 3A4 activity by zinc(II) ion, *Toxicology Letters*, 2005, 156: 341–350.

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

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

LYTWYN, A., et al. Interobserver agreement in the interpretation of anal intraepithelial neoplasia, *Cancer* 2005, 103:1447-56.

MANZIONE, R.C.; NADAL, S.R.; CALORE, E.E. Postoperative Follow-Up of Anal Condylomata Acuminata in HIV-Positive Patients, *Dis. Colon Rectum*, v.46, n.10, p.1358-65, 2003.

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

MELBYE, M., et al. High incidence of anal cancer among AIDS patients, *Lancet*, v.343, p.636-9, 1994.

MODESTO, V.L.; GOTTESMAN, L. Doenças sexualmente transmitidas e manifestações anais da AIDS, *Clin Cir Am Norte*, 1994, 74:1501-34.

MUN, J.H.; KIM, S.H.; JUNG, D.S., et al. Oral zinc sulfate treatment for viral warts: an open-label study. *J Dermatol* 2011; 38: 541–545.

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

PALEFSKY, J.M., et al. Detection of human papillomavirus DNA in anal Intraepithelial neoplasia and anal cancer, *Cancer Research.*, 1991, 51: 1014-9.

PALEFSKY, J.M., et al. Prevalence and Risk Factors for Human Papillomavirus Infection of the anal canal in Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Positive and HIV-Negative Homosexual Men, *The Journal of Infectious Diseases*, 1998m, 177: 361-7.

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

PROFESSIONAL ADVISORY BOARD OF THE AUSTRALIA AND NEW ZEALAND HPV PROJECT – HPV PROJECT. Guidelines for the medical management of genital HPV and/or genital warts in Australia and New Zealand, 3ª ed.; 2002.

R DEVELOPMENT CORE TEAM – R-TEAM (2012). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

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

RYAN, D.P.; CAMPTON, C.C.; MAYER, R.J. Carcinoma of the anal canal, *N Engl J Med*, 2000, 342:798-800.

SAMPAIO, S. A. P.; RIVITTI, E. A. *Dermatologia*. 2 ed. São Paulo: Artes Medicas, 2000.

p.418- 711.

SADIGHHA, A. Oral zinc sulphate in recalcitrant multiple viral warts: a pilot study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009; 23: 715–716.

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

SINGH, J.C.; KUOHUNG, V.; PALEFSKY, J.M. Efficacy of trichloroacetic acid in the treatment of anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive and HIV-negative men who have sex with men. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009;52:474–9.

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

SOBHANI, I.; WALZER, F.; APARICIO, T.; ABRAMOWITZ, L.; HENIN, D.; CREMIEUX, A.C.; SOULE, J.C. Effect of anal epidermoid cancer-related viruses on the dendritic (Langerhans') cells of the human anal mucosa. *Clinical Cancer Research*, v.8, p. 2862-69, 2002.

VANDEPAPELIERE, P., et al. Randomized controlled trial of an adjuvanted human papillomavirus (HPV) type 6 L2E7 vaccine: infection of external anogenital warts with multiple HPV types and failure of therapeutic vaccination, *J Infect Dis.*, 2005, 192 (12): 2099-107.

YAGHOUBI, R.; SADIGHHA, A.; BAKTASH, D. Evaluation of oral zinc sulfate effect on recalcitrant multiple viral warts: A randomized placebo-controlled clinical trial. *J Am Acad Dermatol* 60(4):706-708, 2009.

APÊNDICE

Apêndice A - Equipe Científica de apoio ao desenvolvimento do PIBIC

NOME	FORMAÇÃO (TITULAÇÃO)	INSTITUIÇÃO DE TRABALHO	EXPERIÊNCIA EM	ATIVIDADES NO PLANO DE DISSERTAÇÃO
Adriana Gonçalves Daumas Pinheiro Guimarães	Médica, Especialista	UFAM	Coloproctologista do grupo de pesquisa escrutínio do câncer anal	Orientação
Rosilene Viana de Andrade	Médico, PhD	UFAM	Anatomopatologia	Laudos Histopatológicos
Carolina da Costa Marinho	Farmacêutica bioquímica	FMT-HVD	Captura híbrida	Testes de captura híbrida do HPV
Luiz Carlos de Lima Ferreira	Médico-Doutor	UFAM	Anatomopatologia	supervisão
José de Araújo	Anatomopatologista	FMT-HVD	Anatomia patológica	Laudos histopatológicos
Aline Lury Hada	Acadêmica de medicina	FMT-HVD	Pesquisas em laboratório	Auxiliar de coleta, transporte do material e cultura das células
Isabelle Gracinda Santos Aguiar	Acadêmica de medicina	FMT-HVD	Pesquisas em laboratório	Auxiliar de coleta, transporte do material e cultura das células
Bruno de Queiroz Alves	Orientado-Acadêmico Medicina, Aluno Bolsista	UFAM	Graduando	Auxiliar de coleta, triagem, execução das técnicas no laboratório, tratamento dos dados, análise estatística dos dados, levantamento bibliográfico, redação final.

Apêndice B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Universidade Federal do Amazonas

Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC 2011/2012

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Estudo dos fatores que influenciam uma melhor resposta terapêutica ao uso de sulfato de zinco oral como agente redutor do índice de recidivas dos condilomas anorretais em pacientes HIV positivos atendidos na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado-FMT-HVD

DESCRIÇÃO E OBJETIVO DO ESTUDO

O câncer anal é uma doença grave que acontece mais nas pessoas que fazem sexo anal sem camisinha, nas mulheres que já tiveram inflamação grave ou câncer de útero, nos transplantados, nos fumantes, nos que têm ou tiveram “doenças do sexo” como verrugas próximas ao ânus (via), e ainda nos portadores de HIV/AIDS.

Estamos convidando você para participar da pesquisa “**Evolução clínica de pacientes com HIV portadores de condilomas anorretais tratados com sulfato de zinco oral em Instituição de Referência no Amazonas**”. Você foi escolhido por ter um dos riscos ditos acima ou por ter vírus do HIV/AIDS. Na consulta veremos se há condilomas anais (verrugas) que podem estar dentro ou em volta do ânus em você, para isso coletaremos o material do seu anus (via) com uma escova delicada, logo após usaremos um aparelho descartável (que se joga fora após o uso) para olhar por dentro, faremos a retirada cirúrgica da verruga e a cauterização do local e a verruga será mandada para biópsia, para isso faremos uma pequena anestesia no local, que pode arder levemente (ocorre freqüentemente), acelerar o coração (raramente ocorre) e dar mal estar (raramente ocorre), por isso é importante ir com um acompanhante adulto. Caso isso aconteça, você ficará em observação conosco até que a sensação ruim passe. Um pequeno sangramento também poderá ocorrer quando você for fazer o primeiro cocô, mas não é preciso se preocupar. Uma amostra de seu sangue também será necessária para testar a quantidade e o número de células de defesa que você tem no sangue, se ainda não tiver feito o teste, sua. O sangue será coletado na veia superficial do braço (fossa cubital), utilizando seringa descartável e pode causar um pequeno desconforto suportável. Você será receitado com Sulfato de Zinco para evitar que novas verrugas nasçam no ânus.

Gostaríamos, com o trabalho, de conhecer quantas pessoas tratadas com o Sulfato de Zinco após a retirada das verrugas anais vão apresentar melhoras, em quanto tempo e quais os fatores que prejudicam esta resposta. Com isso podemos ver porque alguns duentes não respondem ao zinco, criar um programa de seguimento mais de perto para pacientes com maior risco de transformação maligna (câncer). Você precisará também responder perguntas íntimas sobre a sua doença, sexo anal, doenças do sexo e o quanto estudou. Não existem outros exames melhores ou com menos riscos. O material será examinado no laboratório do Hospital Tropical, e você receberá os resultados na próxima consulta. Caso você passe mal, ou tenha algum problema devido aos exames ou dúvidas quanto à

pesquisa, procure a Dra. Adriana Daumas no telefone (92)3238-1711 ou no endereço Av. Pedro Teixeira, 25 Dom Pedro.

Você tem a liberdade e o direito de negar sua participação ou retirar seu consentimento (autorização) em qualquer momento, podendo mesmo assim continuar a ser atendido. Em caso de ocorrer algum dano eventual à sua saúde durante o período de estudo, provocado pelos exames necessários para realizá-lo, a responsabilidade recairá inteiramente sobre o pesquisador e a Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), conforme prevê a Resolução 196/96 – CNS.

Sua identidade (nome e rosto) será mantida em segredo pelo pesquisador e pela Fundação Tropical. Os resultados da pesquisa serão analisados e colocado em tabelas, figuras, fotos ou gráficos e mostrados em palestras, conferências, periódico científico ou outra forma que leve o conhecimento para a sociedade e autoridades da área da saúde nacionais ou internacionais, de acordo com as normas (leis) de proteção nacional ou internacional.

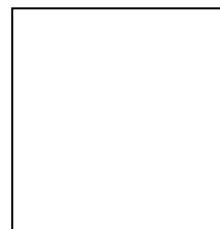
Os custos dos exames, das consultas e do tratamento serão de responsabilidade da Fundação de Medicina Tropical, você só precisará se deslocar, por meios próprios, até o local da consulta ou para o tratamento conforme a orientação que receberá durante a pesquisa. Você receberá uma cópia deste termo, e deverá assiná-lo.

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO:

Eu,, participante do estudo, recebi a explicação de que serei um(a) dos(as) participantes dessa pesquisa. Se eu não souber ler ou escrever, uma pessoa de minha confiança lerá este documento para mim e depois escreverá nesta página o meu nome.

E por estar devidamente informado (a) e esclarecido (a) sobre o conteúdo deste termo, livremente, sem qualquer pressão por parte dos pesquisadores, expresso meu consentimento para minha inclusão nesta pesquisa.

.....
ASSINATURA DO PACIENTE OU REPRESENTANTE LEGAL



IMPRESSÃO DO POLEGAR DIREITO DO PACIENTE,
CASO ESTE NÃO SAIBA ESCREVER SEU NOME.

.....
LOCAL E DATA

PESQUISADOR RESPONSÁVEL PELO ACOMPANHAMENTO E INFORMAÇÕES AO PACIENTE:

NOME LEGÍVEL: ADRIANA DAUMAS PINHEIRO GUIMARÃES
FONE: (92)3621-6590

.....
ASSINATURA