**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

Substratos Neuropatológicos das Alterações do Sistema Nervoso Central relacionadas à infecção pelo HIV

Aluna: Nathalia Lopes Schiavotelo

Orientador: Prof. Dr Luciano Neder Serafini

Co-orientador: Prof.Dr.José Eymard H. Pittella

Ribeirão Preto

2016

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

**SUBSTRATOS NEUROPATOLÓGICOS DAS ALTERAÇÕES DO SISTEMA
NERVOSO CENTRAL RELACIONADAS À INFECÇÃO PELO HIV**

Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível no departamento de Patologia e Medicina Legal FMRP-USP.

Dissertação apresentada ao Departamento de
Patologia e Medicina Legal da Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto da Universidade
de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Patologia

Área de concentração: Patologia Experimental

Orientador: Prof. Dr. Luciano Neder Serafini

Co-orientador: Prof. Dr. José Eymar H. Pittella

Ribeirão Preto

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Schiavotelo, Nathalia Lopes

Substratos neuropatológicos das alterações do sistema nervoso central relacionados à infecção pelo HIV. Ribeirão Preto, 2016.

64 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP.

Área de concentração: Patologia.

Orientador: Luciano Neder Serafini.

Co-orientador: José Eymard Homem Pittella

1. AIDS. 2. Neuropatologia. 3. Infecções oportunistas. 4. Terapia antirretroviral

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nathalia Lopes Schiavotelo

Substratos neuropatológicos das alterações do sistema nervoso central relacionadas à infecção pelo HIV

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre

Área de Concentração: Patologia

Aprovado em: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof.Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof.Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar forças em momentos da vida que achei que não mais as tivesse.

A meus pais, minha mãe Zélia (*in memorian*) que sempre fez o máximo para que eu tivesse uma boa educação e sempre apoiou os meus sonhos, e meu pai Pedro por ser meu porto seguro. A eles agradeço a educação, carinho e amor com o qual fui criada e, sem os quais não teria me tornado quem sou.

Ao Prof. Dr. Luciano Neder, por ter me aceitado como aluna de pós-graduação e feito com que eu me tornasse uma pessoa mais forte e madura.

Ao Prof. Dr. José E.H. Pittella pelos ensinamentos, exemplo de humildade e a ajuda na análise neuropatológica desse trabalho.

A Deise Lucia Chesca que não poupou esforços em me ajudar e pelo carinho que sempre teve comigo.

Ao Fabiano pela ajuda no trabalho e pela dedicação.

A todos os colegas do Neurolab, pela ajuda e aprendizado que tive ali.

As colegas de pós-graduação pelos momentos inesquecíveis que vivemos juntas, nas dores e nas alegrias. Em especial a Renata pelas orações e pelo ombro amigo, a Niele pela ajuda com meu trabalho e apoio em todas as horas, a Bruna pela amizade e ajuda, a Isabela pela amizade e a Flávia pelo ombro amigo nas dificuldades.

A equipe do SERPAT pelo trabalho realizado, aos técnicos de necropsia, residentes, funcionários e patologistas, que colaboraram direta ou indiretamente nesse trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Patologia, pela atenção e ajuda que sempre recebi de todos.

Aos pacientes, sem os quais não teria sido possível a realização desse trabalho.

A CAPES pelo apoio científico e financeiro.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.

Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

Sumário

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	Epidemiologia da AIDS	15
1.2	O Vírus	15
1.3	Neuroinfecção	16
1.4	Alterações neurológicas na AIDS	18
1.5	Neuroinfecções – Pré TARVP e Pós TARVP	19
2	JUSTIFICATIVA	24
3	HIPÓTESE OPERACIONAL	26
4	OBJETIVOS	28
4.1	Objetivos Gerais	28
4.2	Objetivos Específicos	28
5	METODOLOGIA	30
5.1	Casuística	30
5.2	Amostras de encéfalo	31
5.3	Técnica de imuno-histoquímica	32
5.4	Análise Estatística	32
6	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	35
7	RESULTADOS	37
7.1	Grupos de Risco	37
7.2	Uso de Terapia antirretroviral de alta potência (TARVAP)	37
7.3	Alterações neurológicas e neuroinfecções	40
7.4	Laudos necroscópicos e achados Neuropatológicos	43

8	DISCUSSÃO	46
9	CONCLUSÕES.....	51
10	REFERÊNCIAS.....	53
	ANEXO	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número de pacientes avaliados de acordo com o grupo de risco para contaminação pelo HIV.	37
Tabela 2. Uso da terapia antirretroviral de alta potência no decorrer da doença.	38
Tabela 3. Pacientes que fizeram uso regular da TARVAP e causa do óbito.	38
Tabela 4. Análise comparativa entre contagem de células CD4 e uso de terapia antirretroviral de alta potência.	39
Tabela 5. Distribuição dos casos de acordo com o tipo de neuroinfecção (diagnósticos clínicos e achados neuropatológicos de 2009 a 2014).	40
Tabela 6. Frequência de Neuroinfecções em achados clínicos.	40
Tabela 7. Correlação entre uso de TARVAP e neuroinfecções	41
Tabela 8. Neuroinfecções presentes entre os pacientes que não fizeram uso de TARVAP em nenhum estágio da doença.	41
Tabela 9. Casos de Demência nos pacientes com HIV.	42
Tabela 10. Achados no exame neuropatológico de pacientes sem histórico clínico de neuroinfecções por agentes oportunistas.	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do vírus HIV com as glicoproteínas do envelope viral gp120 e gp41.....	16
Figura 2. Neuroinvasão pelo HIV e formação das células gigantes multinucleadas. <i>Francisco González-Scarano* and Julio Martín-García* 2005.</i>	18
Figura 3. Fotomicrografia da imunoexpressão da proteína TAU em neurônios piramidais do setor CA1 do hipocampo (aumento 100x).	42
Figura 4. Fotomicrografia da imunoexpressão da proteína TAU em Região temporal do córtex (aumento 100x).	43

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS - *Acquired Immunodeficiency Syndrome*

ANI - Asymptomatic neuropsychological impairment

CMV - Citomegalovírus

CV- Carga Viral

FMRP-USP - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-Universidade de São Paulo

H&E - Hematoxilina & Eosina

HAART - Highly active antiretroviral therapy

HAD - HIV-associated dementia

HAND - HIV-associated neurocognitive disorders

HIV - Human Immunodeficiency Virus

HIVE - Human Immunodeficiency Virus Encephalitis

LEMP - Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva

MCP-1 - Monocyte chemotactic protein-1

MND - Mild neurocognitive disorder

RNA - Ribonucleic acid

SIDA - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SNC - Sistema Nervoso Central

TA - Temperatura ambiente

TARVAP - Terapia antirretroviral de alta potência

TCD4 - Linfócitos CD4

TNF- α Fator de Necrose Tumoral α

UNAIDS- *Joint United Nations Program on HIV/AIDS*

RESUMO

Schiavotelo NL. *Substratos neuropatológicos das alterações do sistema nervoso central relacionadas à infecção pelo HIV. Dissertação (Mestrado)*. Ribeirão Preto, Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2015.

INTRODUÇÃO: Embora a mortalidade geral tenha diminuído na era da terapia antirretroviral de alta potência (TARVAP), o envolvimento do Sistema Nervoso Central (SNC) ainda é elevado nos pacientes com infecção pelo HIV. O estudo sobre possíveis correlações entre neuroinfecções, a presença de *déficits* neurocognitivos e o uso da TARVAP é importante para se avaliar os efeitos de longo prazo do tratamento com drogas antirretrovirais em uma população. Desta forma, são necessários estudos para se avaliar a neuropatologia da infecção pelo HIV e os efeitos do tratamento bem como a adesão ao mesmo. **OBJETIVOS:** Analisar a frequência e o tipo de infecções oportunistas e da infecção crônica pelo HIV no SNC na era pós-TARVAP, de pacientes necropsiados em um hospital universitário, no período de 2007 a 2014. Nestes casos, avaliar o substrato neuropatológico de pacientes com Aids e histórico clínico de demência. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram analisados os achados dos exames neuropatológicos de 123 encéfalos de pacientes autopsiados com AIDS no Serviço de Patologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP/USP), seus dados clínicos e respectivos os laudos necroscópicos. **RESULTADOS:** Dos 123 casos analisados, 73 (59,3%) eram do sexo masculino e a média de idade foi de 40,56 anos. Destes, 69 (56,1%) tiveram neuroinfecções causadas por agentes oportunistas, sendo a neurotoxoplasmose a mais prevalente. Da correlação entre a contagem de células CD4 e o uso da TARVAP houve diferença significativa para uma delas, àquela que foi analisada como sendo a terceira mais próxima da data do óbito ($p = 0,03$). Apenas 6 pacientes fizeram uso regular da TARVAP no decorrer da doença e nenhum deles apresentaram neuroinfecções durante o tratamento. **CONCLUSÕES:** Podemos concluir que mesmo na era pós TARVAP as infecções no SNC causadas por agentes infecciosos permanecem presentes e no caso da população estudada podem estar correlacionadas com a baixa adesão ao tratamento.

PALAVRAS-CHAVES: 1.AIDS; 2.Neuropatologia; 3.Infecções oportunistas; 4.Terapia antirretroviral de alta potência

ABSTRACT

Schiavotelo NL. *Neuropathological substrates of the central nervous system changes related to HIV infection. Dissertation (Master's Degree)*. Ribeirão Preto, Department of Pathology and Forensic Medicine of Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, in 2015.

RATIONALE: Although overall mortality has decreased in the era of highly active antiretroviral therapy (HAART), the involvement of the central nervous system (CNS) is still high in patients with HIV infection. The study of possible correlations between neuroinfections, the presence of neurocognitive payment deficits and the use of HAART is important to evaluate the long-term effects of treatment with antiretroviral drugs in a population. Thus, studies are needed to evaluate the neuropathology of infection by HIV and the treatment effects and it adhesion. **OBJECTIVES:** To analyze the changes caused by opportunistic infections and chronic HIV infection in the CNS in the post-HAART era of autopsied patients at a university hospital, from 2007 to 2014. In these cases, assess the neuropathologic of AIDS patients and clinical history of dementia.

MATERIALS AND METHODS: The findings of neuropathological examinations of 123 brains of patients were analyzed autopsied AIDS in Hospital Pathology Service of the Clinics of Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo (HCFMRP / USP) clinical data and their postmortem reports. **RESULTS:** The 123 cases analyzed, 73 (59.3%) were male and the average age was 40.56 years. Of these 69 (56,1%) had neuroinfections caused by opportunistic agents, toxoplasmosis being the most prevalent. The correlation between CD4 cell count and use of HAART were no significant differences for one of them to that which was analyzed as being the closest third of the date of death ($p = 0.03$). Only 6 patients made regular use of HAART during the disease and none of them showed neuroinfections during treatment. **CONCLUSIONS:** We can conclude that even in the post HAART era CNS infections caused by infectious agents remain present and in the case of the studied population can be correlated with low adherence to the treatment.

KEYWORDS: 1. AIDS 2. Neuropathology 3. Opportunistic infections 4.HAART

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Epidemiologia da AIDS*

De acordo com o programa da Organização das Nações Unidas para HIV/AIDS (UNAIDS), estima-se que desde o início da epidemia, em 1981, até o ano de 2008, quase 60 milhões de pessoas foram infectadas pelo HIV, sendo que 25 a 30 milhões de pessoas morreram em decorrência da infecção. Em 2014 estimou-se que havia cerca de 36,9 milhões de pessoas vivendo com AIDS e cerca de 2 milhões de novas infecções pelo vírus, com uma estimativa de 1.2 milhões de óbitos relacionados a AIDS ⁽¹⁾.

No Brasil, estima-se que em 2014 havia cerca de 734.000 pessoas vivendo com HIV, com prevalência de HIV estimada para o Brasil entre 0,4 e 0,7 (% da população) e cerca de 44.000 novas infecções para o HIV no mesmo ano, e a estimativa do número de óbitos relacionados à AIDS foi cerca de 16.000⁽²⁾.

1.2 *O Vírus*

O HIV é um retrovírus da família *Lentiviridae*, com bicamada lipídica a qual é derivada da membrana celular do hospedeiro, com genoma complexo e partículas de núcleo de cápsideo em forma de cone⁽³⁾. Ele possui uma estrutura plasmática a qual se constitui do capsídeo viral que contém proteínas relacionadas ao ciclo de vida do vírus (*integrase*, *protease* e a *transcriptase reversa*), do nucleóide composto de duas moléculas de RNA de cadeia simples e proteínas codificadas pelos genes GAG, POL e ENV do envelope viral no qual se encontram as sequências codificadoras destas glicoproteínas⁽⁴⁾.

As glicoproteínas presentes no envelope viral são fundamentais para o processo de infecção das células T CD4 e da linhagem dos monócitos e macrófagos, já que essas células possuem receptores específicos para elas⁽⁵⁾.

O HIV infecta os linfócitos T CD4 e também células da linhagem dos monócitos e dos macrófagos através da interação das proteínas do envelope viral (gp120 e gp41) com os receptores presentes nas células infectadas (CXCR4 nos linfócitos e CCR5 nos monócitos e macrófagos). Ambas as glicoproteínas são codificadas pelo gene ENV, sendo a gp120 uma

proteína da superfície que se liga aos receptores celulares e a gp41 uma proteína transmembrana envolvida na fusão viral com a superfície da célula infectada⁽⁶⁾, como ilustrado na Figura 1.

Figura 1. Estrutura do vírus HIV com as glicoproteínas do envelope viral gp120 e gp41
www.stanford.edu/.../2005gongishmail/HIV.html

Após a entrada do vírus na célula, o mesmo libera seu material genético no citoplasma através da ação da enzima *transcriptase reversa* (TR), a qual transcreve o RNA viral em DNA, na forma de DNA complementar, o qual é então transportado ao núcleo da célula e se integra ao DNA por meio da *integrase*, outra enzima viral. O processo de ativação da via responsável pelo transporte da cópia do RNA do vírus para o citoplasma é mediado pela ação de proteínas acessórias do mesmo e a síntese de novas proteínas virais é realizada pela enzima *protease*⁽⁷⁾.

1.3 Neuroinfecção

O vírus invade precocemente o sistema nervoso central (SNC) através da infecção de linfócitos T e monócitos, por meio de um mecanismo conhecido por “cavalo de Tróia” ⁽⁸⁾. O SNC é considerado “sítio imunoprivilegiado”, porém não está imune a infecções ou a circulação de citocinas e de células do sistema imune (linfócitos, monócitos).

Os monócitos circulantes, células as quais são infectadas pelo HIV são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), sendo assim, os mesmos acabam se tornando

um vetor do vírus para o interior do tecido nervoso. Os monócitos são responsáveis pela replicação do HIV dentro do SNC, e quando no interior do mesmo se diferenciam em macrófagos perivasculares⁽⁹⁾.

No SNC além dos macrófagos perivasculares, as células microgliais são as principais células infectadas pelos vírus, já que ambas as células possuem diversos receptores e co-receptores virais ⁽⁸⁾. O vírus liga-se a estes receptores que, por sua vez, ativam a micróglia. Também os astrócitos podem ser infectados, mesmo não sendo as principais células “alvo” do vírus no tecido nervoso⁽¹⁰⁾. Admite-se que a infecção astrocitária seja não produtiva, atuando, portanto como reservatório para o HIV⁽¹¹⁾.

Após a ligação da gp120 do vírus aos receptores celulares, a micróglia, então ativada, libera diversas quimiocinas e TNF-alpha, além da proteína *tat*, que está envolvida em uma nova sequência de recrutamento de micróglia durante a infecção viral⁽¹²⁾.

A liberação de quimiocinas e citocinas durante o processo de replicação viral no tecido nervoso provoca um processo inflamatório, mediado pela micróglia e pela infiltração de macrófagos perivasculares, gerando um fenômeno conhecido por HIVE (encefalite pelo HIV, do inglês ‘HIV encephalitis’), caracterizado pela formação de células gigantes multinucleadas, astrogliose generalizada e perda neuronal^(12, 13). Proteínas virais, como gp120, também são responsáveis pelo recrutamento de células de defesa e recrutamento de monócitos (Figura. 2)⁽⁸⁾.

Figura 2. Neuroinvasão pelo HIV e formação das células gigantes multinucleadas. Francisco González-Scarano* and Julio Martín-García* 2005.

1.4 Alterações neurológicas na AIDS

A ação do HIV no sistema nervoso central através da infecção das células cerebrais e pela produção de substâncias neurotóxicas resultantes dessa infecção pode levar a um quadro neurológico conhecido por *desordens neurocognitivas associadas ao HIV* ou HAND (do inglês, “*HIV-associated neurocognitive disorders*”), – que representa um grupo de síndromes que cursam com graus variados de perdas cognitivas e funcionais em indivíduos infectados pelo HIV⁽¹⁴⁾. O espectro da HAND inclui desde danos neuropsicológicos assintomáticos (ANI, do inglês “*asymptomatic neuropsychological impairment*”), a desordem neurocognitiva leve (MND, do inglês “*mild neurocognitive disorder*”) até a demência associada ao HIV (HAD, do inglês “*HIV-associated dementia*”)^{(14),(15)}.

Os distúrbios neurocognitivos estão relacionados com o processo inflamatório provocado pelo HIV no SNC e pela ação das quimiocinas que atraem os macrófagos perivasculares infectados pelo vírus para o sistema nervoso. Neste processo, a ativação microglial é a responsável pela produção de substâncias neurotóxicas, que induzem ao dano e disfunção neuronal⁽¹⁶⁾.

O quadro de demência associado ao HIV é o distúrbio neurocognitivo mais grave encontrado em pacientes com AIDS e afeta diretamente as atividades cotidianas desses pacientes devido ao dano neurológico/neurocognitivo. Para se caracterizar um quadro de HAD é necessário afastar infecções oportunistas ou outras alterações neurológicas, como a depressão, e o uso de drogas. Estudos relatam que o uso de drogas, como a cocaína, pode acentuar o processo de inflamação na infecção pelo HIV, agravando o quadro de demência. A cocaína altera a atividade da micróglia e a produção de citocinas e quimiocinas neurotóxicas, acentuando a neuroinflamação e alterando a permeabilidade da barreira hematoencefálica⁽¹⁷⁾. Embora exista uma correlação importante entre o efeito das drogas em potencializar a ação do vírus no sistema nervoso, necessitam-se mais estudos pois muito ainda permanece não elucidado, como por exemplo, o papel de algumas quimiocinas e citocinas e de algumas células, como os astrócitos na infecção pelo HIV^(16, 17).

Os astrócitos possuem uma função ligada ao suporte neuronal através dos canais tipo junção GAP. Durante a infecção pelo vírus seu papel não está bem elucidado já que essas células apresentam uma infecção e uma replicação viral baixa, sendo que as junções tipo GAP podem estar envolvidas na infecção pelo vírus no cérebro⁽¹⁶⁾. Outros estudos relacionando o papel dos astrócitos na neuroinflamação provocada pelo HIV relatam o papel da proteína MCP-1, expressa por estas células, e que está envolvida na quimiotaxia de monócitos infectados, através da BHE, – o que poderia indicar o papel dos astrócitos na infecção pelo vírus no cérebro⁽¹⁸⁾.

1.5 Neuroinfecções – Pré TARVP e Pós TARVP

De fato, desde o início da epidemia de AIDS sabe-se que sinais e sintomas neurológicos são observados em até 60% desses pacientes, dos quais 10% representam os primeiros sinais manifestos da síndrome^(19, 20). As alterações histopatológicas no SNC foram relatadas em 80% a 100% dos casos estudados *post-mortem*^(21, 22).

Na era prévia à terapia antirretroviral de alta potência, o comprometimento neurológico observado nos pacientes que morriam com AIDS, era representado, em sua grande maioria por infecções oportunistas, como a neurotoxoplasmose (34,1% dos pacientes autopsiados), neurocriptococose (13,5%), encefalite pelo citomegalovírus (7,9%) e

leucoencefalopatia multifocal progressiva (0,8%)⁽²³⁾. Além disso, eram frequentes as lesões causadas pelo próprio HIV, como a encefalite pelo HIV (26% dos pacientes autopsiados), a leucoencefalopatia pelo HIV, a mielopatia vacuolar e a meningite linfocítica⁽²⁴⁾. Neoplasias malignas, como os linfomas primários do SNC, eram também mais frequentes nos pacientes com AIDS, afetando de 2% a 12% dos casos⁽²⁵⁾. Lesões inespecíficas, de natureza circulatória – infartos e hemorragias cerebrais – e metabólicas, encontradas na fase terminal da doença, completavam o espectro de alterações observadas nos pacientes com AIDS. Tendo em vista o risco aumentado para doenças de natureza diversa que os pacientes com AIDS apresentam, é relativamente comum haver associação de mais de uma doença no SNC do mesmo paciente^(23, 26).

Com o advento dos inibidores da *transcriptase reversa* dos nucleosídeos, diminuiu-se inicialmente a prevalência de infecções oportunistas, como a neurotoxoplasmose, neurocriptococose, citomegalovirose (CMV) e a leucoencefalopatia multifocal progressiva (LEMP), porém com aumento de casos de encefalite pelo HIV. Somente após a introdução dos inibidores da protease é que ocorreu a diminuição de ambos, ou seja, das infecções oportunistas e da encefalite pelo HIV⁽²⁷⁾. O uso combinado de dois antirretrovirais, seguido pelo uso de inibidores da protease associados a pelo menos três outros antirretrovirais, passou a ser conhecido como terapia combinada de alta potência ou HAART (do inglês “*highly active antiretroviral therapy*”)⁽¹⁵⁾.

A HAART resultou em mudança significativa no curso clínico da doença, com aumento da sobrevida e da qualidade de vida dos pacientes. Isso se deveu, em grande parte, à eficácia da terapia combinada no controle da infecção viral e, conseqüentemente, à redução do dano ao sistema imunológico, permitindo a sua reconstituição. A partir de então, observou-se redução na incidência de infecções oportunistas, do linfoma primário do SNC e da encefalite pelo HIV nos pacientes em uso regular da HAART^(28, 29). Entretanto, a despeito da dramática diminuição da mortalidade e conseqüentemente do número de pacientes autopsiados, o envolvimento do SNC na AIDS permanece sendo uma das principais causas de óbito^(29, 30). As infecções oportunistas permanecem, ainda, como a principal causa de morbidade e mortalidade na era pós-HAART⁽³¹⁾.

A maior sobrevida dos pacientes e a conseqüente exposição prolongada a componentes do HIV, o uso crescente de drogas potencialmente tóxicas para o tecido

nervoso e mesmo a seleção de cepas mais virulentas do HIV ocasionaram alterações marcantes nos padrões dos quadros neuropatológicos até então bem caracterizados. Devido ao aumento de cepas do HIV resistentes aos antirretrovirais, observou-se novo aumento da frequência da encefalite e da leucoencefalopatia pelo HIV^(32, 33). Essa leucoencefalopatia é caracterizada pelo afluxo de células do sistema monocítico fagocitário para o tecido nervoso associado à extensa destruição da substância branca e altos níveis de HIV no cérebro, ocasionando quadros neurológicos diversos. Passaram também a ser observadas lesões residuais ou cicatriciais de encefalite por HIV e de infecções oportunistas, como a neurotoxoplasmose, além de neuropatias periféricas, caracterizadas pela ausência de reação inflamatória e de agentes etiológicos, por vezes com formação de cavitação cística⁽³⁴⁾.

Um marco divisor na história da AIDS foi a introdução da terapia antirretroviral de alta potência. Nos países em desenvolvimento houve uma diminuição nos quadros de infecções oportunistas relacionadas ao HIV assim como nos países desenvolvidos, apesar das diferentes taxas em que isso ocorreu nas diferentes regiões. Quando é feita a comparação entre algumas partes do mundo, por exemplo, como a África Subsaariana e os principais países desenvolvidos, essas diferenças são ainda mais acentuadas e possivelmente esse fato está mais ligado à disponibilidade do tratamento do que a própria adesão a ele⁽³⁵⁾.

Um estudo realizado entre as décadas de 80 e 90 descrevendo os achados neuropatológicos em 252 pacientes infectados pelo HIV autopsiados em São Paulo e Niterói, regiões com maiores índices da doença no país, e compararam a incidência e morfologia das lesões neuropatológicas desses casos analisados. Nos resultados foi observada uma elevada incidência de infecções oportunistas a um nível semelhante aos do início da epidemia em países desenvolvidos na época. As neuroinfecções mais prevalentes foram a Toxoplasmose, seguida da Criptococose e infecção por Citomegalovírus. Além disso, mais de 90% dos pacientes apresentaram algum tipo de lesão nos achados neuropatológicos⁽²³⁾. Esse trabalho mostrou-se como pioneiro no país na época de emergência da doença, avaliando as lesões e achados neuropatológicos da AIDS na era pré TARVAP.

Recentemente outro trabalho realizado no Brasil, analisou os achados neuropatológicos em 284 indivíduos autopsiados na região do triângulo mineiro em Uberaba, Minas Gerais, comparando-os de acordo com o uso de TARVAP. Neste estudo retrospectivo, os autores relatam que a neurotoxoplasmose e a neurocriptococose foram os

principais agentes oportunistas identificados, sendo os quadros infecciosos os mais prevalentes dentre os grupos analisados. Foi realizada também uma avaliação de outros trabalhos pré e pós era TARVAP mostrando um panorama mundial da doença com o advento do uso da terapia⁽³⁶⁾.

Quanto ao envolvimento neurocognitivo na AIDS, houve uma notável diminuição no quadro geral dos casos de demência em relação às outras alterações mais leves após a introdução da TARVAP^(37, 38). Diversos estudos têm sido realizados para analisar essas alterações neurocognitivas relacionadas à AIDS. (Manji; Jäger; Winston, 2016) recentemente realizaram um estudo avaliando o quadro das alterações neurocognitivas relacionadas ao HIV e o uso de TARVAP nos últimos 30 anos de epidemia, correlacionando os principais achados neuropatológicos, clínicos e de neuroimagem avaliando as principais características dessas alterações. Na revisão quanto aos achados neuropatológicos, à encefalite relacionada ao HIV foi a mais marcante, além do destaque para a perda e injúria neuronal, resultantes do processo neurotóxico produzido por citocinas e quimiocinas⁽³⁹⁾.

Outros estudos também apontam a neurotoxicidade produzida pela infecção do HIV no SNC como uma das causas para a prevalência de alterações neurocognitivas, a despeito do uso da TARVAP^(40, 41). (BELL J.E.) analisou a neuropatologia do HIV na era pós TARVAP e comparou os achados neuropatológicos relacionados a essa neurotoxicidade produzida pelo vírus durante seu processo de infecção do SNC. Ele destacou a HIV como principal achado neuropatológico mesmo com uso do tratamento, e destacou a importância de novos estudos das vias de neurodegeneração do SNC produzidas pelo HIV para os pacientes em tratamento que convivem com a infecção pelo vírus⁽⁴²⁾.

Justificativa

2 JUSTIFICATIVA

Apesar da queda da mortalidade entre pessoas infectadas pelo HIV e atualmente a AIDS ser considerada uma doença crônica, as infecções oportunistas e alterações neurocognitivas ainda são frequentes nos indivíduos infectados. Um dos possíveis fatores é a baixa adesão ao tratamento com drogas antirretrovirais em alguns subgrupos populacionais (por exemplo, usuários de drogas injetáveis), apesar do mesmo ser gratuito e estar disponível na rede pública de saúde. Este estudo tem como proposta avaliar os achados neuropatológicos de pacientes com AIDS e correlacionar a análise de dados clínicos ao uso de TARVAP e a presença de infecções oportunistas no SNC. Acreditamos que os resultados apresentados possam servir para novas abordagens quanto a adesão à TARVAP e fornecer um panorama atualizado das principais afecções do SNC em pacientes com AIDS.

Hipótese Operacional

3 HIPÓTESE OPERACIONAL

De acordo com os estudos realizados até o momento sobre a relação de achados neuropatológicos na AIDS após a introdução da terapia antirretroviral de alta potência partimos da hipótese que podemos realizar uma avaliação do histórico clínico de pacientes os seus achados neurológicos e adesão a TARVAP.

Objetivos

4 OBJETIVOS

4.1 *Objetivos Gerais*

O presente estudo pretende avaliar os achados clínicos e neuropatológicos de pacientes autopsiados com AIDS e distúrbios neurológicos associados ao HIV em correlação ao uso de terapia antirretroviral.

4.2 *Objetivos Específicos*

- Realizar a avaliação retrospectiva dos achados clínicos de pacientes com AIDS submetidos ao exame neuropatológico no período de sete anos (2007 – 2014) na era pós TARVAP.
- Correlacionar a presença de infecções oportunistas do SNC de acordo com a idade dos pacientes, uso e aderência à TARVAP, contagem de linfócitos T CD4+ e carga viral em sangue periférico, fatores de risco preexistentes.
- Avaliar os casos de demência relacionada à AIDS correlacionando-os com idade, sexo, tempo de infecção, uso de TARVAP e presença de neuroinfecções.
- Comparar os achados do presente estudo com os de outros centros e em relação à era pré e pós-terapia antirretroviral de alta potência.

Metodologia

5 METODOLOGIA

5.1 *Casuística*

Foram analisados 123 casos de pacientes necropsiados com AIDS no Serviço de Patologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), no período de 2007 a 2014. Desses casos, 73 (59,3%) eram do sexo masculino e a média da idade da população analisada foi de $40,56 \pm 10,3$ anos, sendo que a idade mínima foi 19 anos e a máxima de 75 anos. Foi realizado o levantamento dos dados clínicos dos indivíduos necropsiados com auxílio de instrumento de coleta (anexo B), o qual consistiu na análise dos prontuários médicos desses pacientes, contendo os seguintes itens:

- Identificação dos pacientes, iniciais do nome, gênero, idade, data do óbito e grupo de risco.
- Dados clínicos do paciente, entre eles, tempo de infecção pelo HIV do diagnóstico da doença até a data do óbito.
- Tempo de uso e aderência à terapia antirretroviral de alta potência e de medicamentos, presença de comorbidades, uso de drogas ilícitas e presença de alterações neurológicas e/ou cognitivas.
- Presença de infecções oportunistas e de exames de imagem do encéfalo.
- Sorologias com contagem de linfócitos T CD4+ e carga viral.
- Dados dos laudos de necropsia.

Da análise dos dados clínicos obtidos dos prontuários foi possível separar os pacientes em grupos distintos de acordo com o risco para contaminação pelo HIV.

Grupo 1: uso de drogas, como álcool, crack, maconha, injetáveis e cocaína;

Grupo 2: Sexo sem proteção;

Grupo 3: transmissão vertical, transfusão de sangue, acidente com material perfuro-cortante, relações sexuais com indivíduos do mesmo gênero, contato com sangue de terceiros, presidiário/ex-presidiário.

Os dados dos prontuários no histórico clínico do paciente faziam distinção entre relações do mesmo sexo e sexo sem proteção. Subentendeu-se que esses pacientes mantiveram relações sexuais sem preservativos com pessoas do mesmo sexo, para se realizar a análise estatística foi preciso manter a fidelidade aos dados coletados dos prontuários.

5.2 Amostras de encéfalo

Nesta etapa foram utilizadas as amostras de encéfalos obtidos de indivíduos autopsiados com diagnóstico de infecção pelo HIV/SIDA C3 realizadas pelo Serviço de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP no período compreendido entre 2007 a 2014. Seguindo a rotina do setor de necropsias do Departamento de Patologia da Instituição, o material de autópsia de pacientes com AIDS foi obtido no tempo mais curto possível, não menos que 6 horas, mas jamais excedendo a um máximo de 12 horas *post-mortem*. O encéfalo foi removido da caixa craniana e fixado em uma cuba contendo solução de formalina tamponada a 10%, de acordo com o protocolo seguido pelo Serviço de Patologia da FMRP-USP.

Após período de fixação em formol tamponado a 10% durante cerca de duas a três semanas, o encéfalo foi seccionado em cortes coronais dos hemisférios cerebrais, e horizontais do tronco encefálico e cerebelo, sendo examinada a superfície de corte com a finalidade de identificar lesões de natureza diversa presentes em pacientes portadores de AIDS. Em geral, são retiradas amostras das diferentes regiões do encéfalo para inclusão em parafina: *lobo frontal, parietal, temporal e occipital, joelho e esplênio do corpo caloso, núcleos da base, tálamo, mesencéfalo, ponte, bulbo e hemisfério cerebelar* (anexo C).

Lesões identificadas macroscopicamente foram descritas de acordo com o padrão morfológico (p.ex., lesão nodular necrótica, cistos mucóides diminutos), localização, dimensões e número, e também amostradas para análise microscópica. Os cortes

subsequentes foram então realizados na espessura de 2mm, e as secções fixadas em solução de formalina tamponada a 10%, seccionadas em blocos menores e processadas para inclusão em parafina. Os blocos foram posteriormente seccionados em micrótomo e processados para análise histológica.

5.3 Técnica de imuno-histoquímica

Dos blocos correspondentes às áreas escolhidas foram obtidas cortes com espessura de 5µm a fim de realizar a coloração com hematoxilina-eosina (H&E) e as reações de imuno-histoquímicas. Os cortes foram colocados em estufa de aquecimento à temperatura de 60°C por 1 hora para desparafinização. Em seguida, imersos em xilol I (solvente portador de terminação dimetilbenzênica) pré-aquecido, e colocados em estufa a 60°C por 10 minutos. Posteriormente, as lâminas foram colocadas em sucessivas de xilol por 10 minutos cada (xilol II e III). Seguindo a bateria de hidratação, as lâminas foram então sucessivamente imersas por 1 minuto em solução de álcool-xilol, álcool absoluto (2x), álcool 95% (1x), álcool 80%(1x), álcool 70%(1x) e por fim, imersos em água deionizada.

As reações imuno-histoquímicas foram realizadas com a utilização de polímeros de amplificação (Novolink™) para cada um dos anticorpos. A recuperação antigênica foi realizada em *Steamer* por 40 minutos a 60°C em tampão citrato pH 6,0. Em seguida os cortes foram resfriados em temperatura ambiente (TA) por 30 minutos, e lavados em solução de PBS pH 7,4 por 5 minutos. O bloqueio da peroxidase endógena foi realizado através de solução de peróxido de hidrogênio a 3% por 10 minutos, seguidos de imersão por 3 minutos em soluções de PBS (2x). O bloqueio das ligações inespecíficas foi realizado através de BSA. A lavagem seguinte foi realizada com TBST, e as lâminas incubadas a 4°C por 12 horas em câmara úmida no escuro com o com o anticorpo monoclonal primário Phospho-PHF-tau pSer202+Thr205 (AT8, Thermo Scientific), na diluição 1:300^(43, 44). As áreas do encéfalo utilizadas na imuno-histoquímicas com anticorpo anti-tau fosforilado foram as regiões do neocórtex, córtex entorrinal e hipocampo.

5.4 Análise Estatística

Os resultados foram analisados através de Teste exato de Qui Quadrado e Teste não paramétrico de Mann-Whitney, e adotamos como nível de significância $p \leq 0,05$.

Para os cruzamentos de dados clínicos dos pacientes que fizeram uso de TARVAP com as variáveis numéricas foi utilizado o Teste não paramétrico de Mann-Whitney.

Delineamento experimental

6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Resultados

7 RESULTADOS

7.1 Grupos de Risco

Em relação aos grupos de risco, observamos que a maioria dos pacientes era usuária de drogas (grupo 1), como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Número de pacientes avaliados de acordo com o grupo de risco para contaminação pelo HIV.

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
	n %	n %	n %
Sim	62 (50,4)	27 (22,0)	39 (31,7)
Não	43 (35,0)	78 (63,4)	67(54,5)
Não informado	18 (14,6)	18 (14,6)	17(13,8)
Total	123 (100)	123 (100)	123 (100)

Nota1: Grupo 1: Uso de drogas (álcool, crack, maconha, injetáveis, cocaína); Grupo 2: Sexo sem proteção; Grupo 3: outros (relações sexuais com indivíduos do mesmo gênero, transfusão de sangue, acidente com material perfurocortante, transmissão vertical, contato com sangue de terceiros, presidiário/ex presidiário).

Nota2: a somatória das percentagens é maior que 100, pois alguns pacientes apresentaram mais de 1 fator de risco.

De alguns casos analisados não havia informação do tipo de risco em que esse paciente se enquadrava, sendo que muitos deles não fizeram o acompanhamento da doença. A análise estatística foi feita com os grupos, levando em conta que um paciente pode estar em mais de um grupo de risco ao mesmo tempo, por isso os valores totais estão mostrados **nas colunas**, onde no final de cada coluna o total é 100%.

7.2 Uso de Terapia antirretroviral de alta potência (TARVAP)

No decorrer da doença, de acordo com anotações do histórico clínico presentes nos prontuários desses pacientes, a maior parte deles fez uso da TARVAP, mesmo que de maneira irregular, sendo que do total analisado, 86 pacientes (69,9%) fizeram uso da terapia e tiveram uma média de vida de 10.03 anos e 37 (30,1%) não o fizeram em nenhum estágio da doença e tiveram uma média de vida de 3.47 anos (Tabela 2). Dentre aqueles que fizeram

uso da TARVAP, apenas 6 (4,9%) a utilizaram de forma regular por, no mínimo, 3 meses. Nos 6 casos que fizeram uso regular de TARVAP não se observou alterações morfológicas ou histórico de neuroinfecção. Nas causas do óbito não constam neuroinfecções por agentes infecciosos oportunistas, de acordo com os laudos das necropsias (Tabela 3).

Tabela 2. Uso da terapia antirretroviral de alta potência no decorrer da doença.

Uso de TARVAP	No.	Porcentagem %
Sim	86	69,9
Não	37	30,1
Total	123	100

Tabela 3. Pacientes que fizeram uso regular da TARVAP e causa do óbito.

Caso	Tempo de Uso de TARVAP (anos)	Tempo de doença (anos)	Laudos do óbito
2	5	5	Choque séptico, Pneumonia, Linfoma não Hodgkin plasmablastico, SIDA C3
43	11	11	Pneumonia, Obstrução intestinal aguda por infiltração neoplásica, Mieloma Múltiplo em calota craniana, SIDA, Hepatite-vírus C
67	11	11	SIDA complicada por Pneumonia
70	9	10	Choque hipovolêmico, Hemorragia digestiva alta, Úlceras gástricas de estresse, Sepses, Cirrose Hepática- vírus C, SIDA
94	4	5	Pulmão de choque, Infecção de cateter de hemodiálise, DM tipo II, IRC, SIDA C3

106	8	9	Pneumonia, Cirrose por vírus C, Cardiopatia hipertensiva descompensada, SIDA
-----	---	---	--

Classificando as contagens de células CD4 no sangue periférico em três períodos distintos em A, B e C, como sendo os resultados da contagem de células nas datas mais próximas a data do óbito do paciente, e considerando que C foi último resultado mais próximo a esta data, B o penúltimo e A antepenúltimo. Comparando esses valores com o uso da TARVAP, houve diferença significativa para as contagens de CD4 apenas no período A ($p = 0,03$).

Tabela 4. Análise comparativa entre contagem de células CD4 e uso de terapia antirretroviral de alta potência.

	Tempo A CD4 (cél/mm ³)	Tempo B CD4 (cél/mm ³)	*Tempo C CD4 (cél/mm ³)
n	67	64	69
Mediana	94,00	85,50	60,00
Média	155,64	157,62	107,97
<i>P</i>	0,03	0,36	0,21
Máximo	709	1320	506
Mínimo	5	2	1
Desvio Padrão	161,065	196,377	127,118

*Resultados da contagem de células CD4 mais próximos à data do óbito.

A mediana para o resultado entre os pacientes que fizeram uso de TARVAP e a contagem de suas células CD4 foi 68,00 e para aqueles que não fizeram foi de 34,00.

Quanto a contagem da Carga Viral (CV), foi possível obter este dado em apenas 5 casos devido à inconsistência de anotações dos dados nos prontuários.

7.3 Alterações neurológicas e neuroinfecções

Quanto ao quadro de Infecções no SNC relacionadas a agentes oportunistas infecciosos, dos 123 casos analisados, 69 pacientes tiveram em algum estágio da doença algum tipo de neuroinfecção, sendo que 10 deles tiveram dois tipos de coinfeções, enquanto 54 não apresentaram envolvimento do SNC com agentes oportunistas segundo o histórico clínico desses pacientes. Entre aqueles 69 que tiveram história clínica de neuroinfecção, apenas 53 tinham o laudo da análise microscópica do encéfalo, sendo que 16 casos entre os anos de 2007 e 2008 não tinham os laudos da microscopia disponíveis.

Tabela 5. Distribuição dos casos de acordo com o tipo de neuroinfecção (diagnósticos clínicos e achados neuropatológicos de 2009 a 2014).

Infecções Oportunistas	Diagnósticos		Achados
	clínicos	%	neuropatológicos
	N		N
Neurotoxoplasmose	45	36,6	35
Neurocriptococose	25	20,3	18
Neurotuberculose	5	4,06	4
Neurossífilis	2	1,62	—
LEMP*	2	1,62	2
CMV**	2	1,62	2

10 casos tiveram coinfeções por dois agentes oportunistas

* Leucoencefalopatia multifocal progressiva

** Citomegalovírus

Tabela 6. Frequência de Neuroinfecções em achados clínicos

	Quantidade de Neuroinfecções	Frequência	%
A	0,0	54	43,9
B	1,0	59	48,0
C	2,0	10	8,1

Total	123	100
-------	-----	-----

A: Pacientes que não tiveram Neuroinfecção causada por agentes infecciosos oportunistas no decorrer da doença. B: Pacientes que tiveram Neuroinfecção causada por pelo menos um agente infeccioso. C Pacientes que tiveram Neuroinfecção causada por dois agentes infecciosos.

Adotando-se como nível de significância $p \leq 0,05$, temos que da relação entre o uso irregular da TARVAP e as principais neuroinfecções que os pacientes tiveram no decorrer da doença não houve diferença significativa, como pode ser observado na Tabela 7.

Tabela 7. Correlação entre uso de TARVAP e neuroinfecções

	Uso irregular de TARVAP	P
Neurotoxoplasmose	Sim	0,30
Neurocriptococose	Sim	0,46
Outras	Sim	0,18

Resultado que ocorreu também entre os 37 pacientes que não fizeram uso nenhum de TARVAP.

Tabela 8. Neuroinfecções presentes entre os pacientes que não fizeram uso de TARVAP em nenhum estágio da doença.

	Sem uso de TARVAP N
Neurotoxoplasmose	11
Neurocriptococose	6
Neurotuberculose	1
Sem neuroinfecção	19
Total	37

Dos 123 casos analisados, 88 (71,5%) apresentaram algum tipo de alteração neurológica, das quais as mais frequentes foram crises convulsivas ($n = 27$), cefaleia ($n = 7$),

transtornos de humor e comportamentais (n =32), alterações de marcha (n = 9) e paralisia de membros e da face (n =7), além de casos de síndrome demencial relacionada à AIDS (n = 6).

Tabela 9. Casos de Demência nos pacientes com HIV.

Caso	Idade (anos)	Sexo	Uso de TARVAP*	Neuroinfecção prévia	Tempo de Infecção (anos)
5	34	F	Sim	Ausente	12
28	66	F	Sim	Neurotoxoplasmose	13
68	43	M	Sim	Neurotoxoplasmose	7
75	32	F	Não	Neurotoxoplasmose	Desconhecido
90	30	M	Sim	Neurotuberculose	4
100	58	F	Sim	Neurotoxoplasmose	15

*Uso irregular da TARVAP

Para os Casos de demência foram realizadas reações por imuno-histoquímica para a detecção da proteína TAU. Em dois casos de demência, entre os seis analisados, a imunoexpressão da TAU foi positiva, sendo que as idades desses pacientes eram de 43 e 66 anos.

Figura 3. Fotomicrografia da imunoexpressão da proteína TAU em neurônios piramidais do setor CA1 do hipocampo (aumento 100x).

Figura 4. Fotomicrografia da imunoexpressão da proteína TAU em Região temporal do córtex (aumento 100x).

7.4 Laudos necroscópicos e achados Neuropatológicos

Segundo os laudos da Necropsia dos pacientes, foi possível destacar três principais causas relacionadas ao óbito:

- 1- Complicações pulmonares, entre elas as mais frequentes são: Broncopneumonia Unilateral ou Bilateral e Pneumonia, sendo que 61 laudos determinaram estas como sendo como uma das principais causas relacionadas do óbito.
- 2- Os casos de Seps e Choque séptico apareceram em segundo lugar, sendo que estes apareceram em 44 laudos como sendo uma das principais causas relacionadas do óbito.
- 3- E finalmente em terceiro lugar como causa relacionada ao óbito presente nos laudos estão as complicações relacionadas à Neuroaids (35), entre elas podemos destacar:
 - Neuroinfecções (Neurotoxoplasmose, Neurocriptococose, Neurotuberculose, Neurosífilis e Leucoencefalopatia multifocal progressiva).
 - Edema cerebral
 - Meningite
 - Hemorragia cerebral
 - Complexo AIDS-demência

Nos laudos da Necropsia 35 relatam como causa do óbito complicações relacionadas à Neuroaids em uma data próxima à do óbito. Comparando-se os dados clínicos com os dos achados neuropatológicos da microscopia, daqueles 54 pacientes que não apresentaram nenhuma neuroinfecção no decorrer da história clínica, em 9 deles foram achados agentes infecciosos quando realizada a análise neuropatológica e a microscopia. (Tabela 10)

Tabela 10. Achados no exame neuropatológico de pacientes sem histórico clínico de neuroinfecções por agentes oportunistas.

Casos	Achados no exame neuropatológico
71/09	Leptomeninge criptocócica*, LEMP, Encefalite pelo HIV*
350/10	Aspergilose cerebral, LEMP
407/10	Toxoplasmose cerebral*
43/11	Encefalite criptocócica
723/11	Aspergilose cerebral
185/12	Neurotoxoplasmose
194/12	Neurotoxoplasmose*
620/12	Leptomeninge Tuberculosa
811/14	Suspeita de <i>Aspergillus SP</i> (presença de êmbolos sépticos fúngicos)

*Indica a presença de lesões identificadas apenas no exame microscópico do encéfalo. Os demais casos continham lesões identificadas no exame macroscópico (na leptomeninge ou no parênquima cerebral), mas cuja natureza foi esclarecida somente pelo exame microscópico.

Discussão

8 DISCUSSÃO

Da análise dos casos realizada, houve uma maior prevalência de pacientes do sexo masculino o que também foi encontrado num estudo realizado na cidade de São Paulo, de 1991 a 2006, sobre causas de morte de pacientes com AIDS, o qual também apresentou um número maior de casos do sexo masculino, sendo que dos 32,808 que foram a óbito, 24,954 (76%) faziam parte desse grupo. No entanto, durante o período analisado houve um aumento do número de casos de AIDS entre mulheres e da proporção de mortes entre estas (de 14.3% para 31.0% das mortes relatadas)⁽⁴⁵⁾ revelando um novo perfil epidemiológico com uma feminização da doença⁽⁴⁶⁾.

Da década de 80 até os tempos atuais houve mudanças no perfil da sexualidade da população, e mesmo com a maior acessibilidade a informações sobre a AIDS e prevenção da doença, ainda é necessário um maior acompanhamento e aconselhamento da população a respeito de métodos preventivos, principalmente para reforçar a autonomia feminina frente a decisões quanto ao uso de métodos de proteção e contracepção⁽⁴⁷⁾.

Políticas públicas de combate ao uso de drogas também são fundamentais devido ao risco de contaminação pelo vírus a que os usuários estão expostos considerando que o uso de substâncias alucinógenas pode induzir a um comportamento sexual de risco⁽⁴⁸⁾. Em nosso estudo categorizando os grupos de risco dos pacientes analisados definimos um grupo de acordo com o uso de drogas, entre elas álcool e outras ilícitas como crack e cocaína, e esse grupo foi o que teve maior incidência de contaminação pelo HIV, seguido de grupo de risco de pacientes que relataram sexo sem proteção.

O uso de drogas pode estar relacionado também à má adesão ao tratamento e a um maior índice de comportamento sexual de risco, como sexo sem proteção e com vários parceiros. GONZALEZ et al. realizaram um trabalho no qual fizeram a comparação entre a baixa adesão ao tratamento de pacientes HIV positivo dependentes de substâncias opióides e o uso de drogas, entre elas a cocaína sozinha ou a mesma associada com outras drogas ilícitas. O resultado foi que o uso dessas drogas estava diretamente ligado a uma diminuição na aderência ao tratamento por estes pacientes⁽⁴⁹⁾.

Outro estudo realizado por TROSS et al. apresenta a relação entre uso de drogas e comportamento sexual de risco, no qual os autores analisam se o uso de drogas e álcool

está relacionado a sexo sem proteção e com múltiplos parceiros, e o resultado foi que o uso de álcool e cocaína foram os mais prevalentes relacionados a esse comportamento⁽⁵⁰⁾.

A maior parte dos casos analisados nesse trabalho teve má aderência ao tratamento, no entanto os seis casos que fizeram uso regular de TARVAP não apresentaram nenhum tipo de neuroinfecção por agente oportunista durante o tratamento regular.

A introdução da terapia antirretroviral mudou o quadro das doenças oportunistas infecciosas no mundo e a adesão ao tratamento está diretamente ligada a uma diminuição das taxas de neuroinfecção e de mortalidade⁽⁵¹⁾ Mesmo com essa diminuição das taxas de infecções oportunistas do SNC quando comparadas a era pré-TARVAP elas ainda continuam sendo frequentes em muitos pacientes que possuem a doença mesmo na era pós-TARVAP⁽³¹⁾.

A Neurotoxoplasmose foi infecção mais prevalente em nosso estudo, a qual aparece como neuroinfecção causada por agente infeccioso oportunista mais comum na era pós TARVAP em outros estudos também⁽⁵²⁾. A toxoplasmose é uma doença provocada pelo *Toxoplasma gondii*, um protozoário intracelular, que tem o gato doméstico como um dos hospedeiros definitivos e que pode ser transmitida ao ser humano através da ingestão de oocistos do protozoário em alimentos contaminados⁽⁵³⁾.

Xavier et al. realizaram um estudo para avaliar a prevalência da Toxoplasmose na sorologia de pacientes HIV positivo em atendimento em uma unidade de serviço de saúde na região Sul do Brasil e avaliaram que a soropositividade desses pacientes para a doença era alta e que muitos tinham uma má adesão ao tratamento antirretroviral, concluindo que havia alto risco para o desenvolvimento da toxoplasmose e neurotoxoplasmose nessa população analisada⁽⁵⁴⁾

A segunda neuroinfecção mais prevalente em nosso estudo foi a Neurocriptococose, uma neuroinfecção causada pelo fungo *Cryptococcus neoformans* o qual pode ser encontrado no solo ou em fezes de aves, principalmente de pombos. A contaminação humana se dá pela inalação de esporos do fungo suspensos no ar, e em pacientes contaminados pelo HIV pode se difundir pela corrente sanguínea devido as falhas das células de defesa⁽⁵⁵⁾.

Um estudo realizado com 500 pacientes com neurocriptococose em diferentes países do continente africano (Tailândia, Uganda, Malawi e África do Sul) avaliou as alterações neurológicas e a mortalidade relacioandas a doença e conclui que ambas as taxas de

incidência são significativas mesmo com uso de terapia antirretroviral, sugerindo que a contaminação pelo fungo no organismo, alteração do estado neurológico, e a taxa de eliminação da infecção preveem mortalidade aguda associada com a doença⁽⁵⁶⁾.

Em menor incidência, foram encontrados casos de neuroencefalite causada por vírus JC, resultado que difere de países em desenvolvimento, que apresentam porcentagens maiores dessa doença associada à encefalite causada pelo HIV⁽⁵⁷⁾.

A introdução da terapia antirretroviral de alta potência no tratamento da AIDS foi um divisor de águas no panorama das doenças neurológicas relacionadas à infecção pelo HIV. As neuroinfecções causadas por agentes oportunistas tiveram uma queda significativa em sua incidência, porém um novo olhar foi voltado para as alterações neurocognitivas relacionadas à AIDS e suas formas de diagnóstico⁽⁴⁰⁾. O termo HAND foi utilizado para definir o quadro de desordens cognitivas associadas ao HIV em seus diferentes graus de intensidade quanto aos sintomas apresentados pelos pacientes. HAND é dividida em três subgrupos de acordo com o grau de comprometimento neurocognitivo em ANI, MND e HAD⁽⁵⁸⁾.

ANI é a forma mais comum da doença representando cerca de 70% dos casos de HAND, e se apresenta como a fase da doença caracterizada pela deficiência em testes cognitivos, porém sem interferência direta nas atividades de vida diária. No entanto essa forma mais leve da doença pode progredir para as formas mais graves como demonstrado em um estudo entre com pacientes com AIDS que apresentavam sintomas de ANI comparados a outros pacientes com AIDS e atividade cognitiva normal, e que apresentou resultados nos quais aqueles com ANI apresentaram risco três vezes maior para desenvolver as fases mais graves e sintomáticas da doença com comprometimento em suas atividades do dia-a-dia, ressaltando a importância de diagnóstico e acompanhamento da doença mesmo na fase onde os sintomas são amenos⁽⁵⁹⁾.

A MND corresponde à fase sintomática da doença com comprometimento cognitivo funcional e de memória, mas leve do que a demência, mas que pode evoluir para um quadro com maior gravidade e pode ser considerada como um estágio que precede os sintomas demenciais relacionadas à doença⁽⁶⁰⁾. Os sintomas desse grau da doença são mais sutis de serem identificados clinicamente, sendo necessária a utilização de instrumentos de avaliação neurocognitivas específicos e da atenção familiar ao comportamento dos pacientes. Murray et al. aplicaram testes de avaliação em cuidadores de pacientes com AIDS para que eles

avaliassem os pacientes com os quais conviviam quanto a mudanças comportamentais, e concluíram que a percepção dos cuidadores e familiares é de fundamental importância no auxílio do diagnóstico precoce desse grau de desordem cognitiva⁽⁶¹⁾

Em nosso estudo não foi possível fazer uma análise entre os casos de ANI e MND devido a casuística ser composta por casos de óbitos, sendo que seria necessária a aplicação de testes neurocognitivos para identificação desses grupos de HAND. Os casos de demência que encontramos em nossa casuística foram diagnosticados clinicamente durante tratamento e esses dados foram registrados nos prontuários, sendo assim possível acesso a eles.

A demência associada ao HIV é a fase mais grave dos transtornos neurocognitivos, caracterizada por comprometimento das funções motoras, comportamentais e cognitivas podendo levar a incapacidade total. É caracterizada como um tipo de demência subcortical de acordo com estudos de neuroimagem e anatomo-patológicos⁽⁶²⁾. Estudos indicam que a neuropatogênese está relacionada ao dano neuronal através da neurotoxicidade produzida pelo processo infeccioso do vírus e a ativação das micróglia e macrófagos, com liberação de neurotoxinas que por sua vez acarretam em injúria no tecido neuronal⁽⁸⁾.

Com o advento da Terapia antirretroviral, as taxas de incidência de demência diminuíram significativamente entre os pacientes com AIDS⁽⁵⁸⁾, o que conseguimos avaliar em nosso estudo, no qual entre a população analisada apenas seis casos apresentaram sintomas clínicos da doença e foram diagnosticados com HAD ainda em vida.

Conclusão

9 CONCLUSÕES

- As infecções do SNC mais prevalentes são a Neurotoxoplasmose e a Neurocriptococose, tanto nos achados clínicos quanto neuropatológicos.
- Concluimos com os resultados obtidos nesse trabalho que a má adesão a TARVAP ainda é um grave problema de pacientes com AIDS e que as Infecções oportunistas do SNC ainda são prevalentes e podem estar relacionadas ao uso irregular da terapia antirretroviral.
- Apenas seis casos de pacientes com histórico clínico de demência relacionada à AIDS foram encontrados nesse trabalho, o que está de acordo com os estudos que relatam a diminuição de demência na era pós TARVAP.

Referências

10 REFERÊNCIAS

1. www.unaids.org.
2. www.unaids.org.br.
3. Turner BG¹ SM. Strutural Biology of HIV. J Mol Biol. 1999 Jan 8;285:1-32.
4. Wanda F. Canas Ferreira ASP, Emilia Pietro Alvarez, et al. . Os Vírus da Imunodeficiência ACTA MÉDICA PORTUGUESA. 1991;l:59-63.
5. Checkley MA, Luttge BG, Freed EO. HIV-1 Envelope Glycoprotein Biosynthesis, Trafficking, and Incorporation. Journal of Molecular Biology. 2011;410(4):582-608.
6. Cohen OJ¹ KA, Fauci AS. . Host factors in the pathogenesis of HIV disease Immunol Rev 1997;159:31-48.
7. Terwilliger EF¹ SJ, Haseltine WA Mechanisms of infectivity and replication of HIV-1 and implications for therapy. Ann Emerg Med 1990;19(3):233-41.
8. González-Scarano F, Martín-García J. The neuropathogenesis of AIDS. Nature Reviews Immunology. 2005;5(1):69-81.
9. Gras G, Kaul M. Molecular mechanisms of neuroinvasion by monocytes-macrophages in HIV-1 infection. Retrovirology. 2010;7(1):30.
10. Eugenin EA, Clements JE, Zink MC, Berman JW. Human Immunodeficiency Virus Infection of Human Astrocytes Disrupts Blood-Brain Barrier Integrity by a Gap Junction-Dependent Mechanism. Journal of Neuroscience. 2011;31(26):9456-65.
11. Gray LR, Roche M, Flynn JK, Wesselingh SL, Gorry PR, Churchill MJ. Is the central nervous system a reservoir of HIV-1? Current Opinion in HIV and AIDS. 2014;9(6):552-8.
12. Kaushik DK¹ GM, Basu A. Microglial response to viral challenges: Every silver lining comes with a cloud Frontiers in Bioscience 2011 June 1 16:2187-205.

13. Kaul M. HIV's double strike at the brain neuronal toxicity and compromised neurogenesis NIH Public Access Author Manuscript. 2008 13:2484–94.
14. Gannon P, Khan MZ, Kolson DL. Current understanding of HIV-associated neurocognitive disorders pathogenesis. *Current Opinion in Neurology*. 2011;24(3):275-83.
15. Vivithanaporn P GM, Power C. Impact of current antiretroviral therapies on neuroAIDS. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011 April;9:371-4.
16. Kapadia M, Sakic B. Autoimmune and inflammatory mechanisms of CNS damage. *Progress in Neurobiology*. 2011;95(3):301-33.
17. Berman JW, Carson MJ, Chang L, Cox BM, Fox HS, Gonzalez RG, et al. NeuroAIDS, Drug Abuse, and Inflammation: Building Collaborative Research Activities. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2006;1(4):351-99.
18. Crystal Bethel-Brown HY, ¹ Guoku Hu,² and Shilpa Buchcorresponding author^{1,3}. Platelet-derived growth factor derived growth factor (PDGF)-BBmediated induction of monocyte chemoattractant protein 1 in human astrocytes: implications for HIV-associated neuroinflammation. *Journal of Neuroinflammation*. 2012;9 262
19. Guilloff RJ, Tan SV. Central nervous system opportunistic infections in HIV disease: clinical aspects. *Baillieres Clin Neurol*. 1992 Apr;1(1):103-54.
20. Mamidi A, DeSimone JA, Pomerantz RJ. Central nervous system infections in individuals with HIV-1 infection. *Journal of Neurovirology*. 2002;8(3):158-67.
21. Snider WD SD, Nielson S et al. Neurological complications of AIDS: analysis of 50 patients. *Ann Neurol*. 1983;14:403-18.
22. Koppel BS WG, Tuchman AJ et al. Central nervous system involvement in patients with AIDS. *Ann Inter Med*. 1985;103:533-8.
23. Chimelli L RS, M.D. Hahn et al. . Pathology of the central nervous system in patients infected with the human immunodeficiency virus (HIV): a report of 252 autopsy cases from Brazil. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 1992;18:478-88.

24. Budka. H. Neuropathology of HIV infection. *Brain Pathol.* 1991;1:163-75.
25. Louis DN OH, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol.* 2007 Jul 6. ;114:97-109.
26. Budka H WC, Kleihues P et al. HIV-associated disease of the nervous system: review of nomenclature and proposal for neuropathology based terminology. *Brain Pathology.* 1991;1:143-52.
27. Langford TD LS, Larrea GJ, Masliah E. Changing patterns in the neuropathogenesis of HIV during the HAART era. *Brain Pathol* 2003 April;13(2) 195-210.
28. Rigolet A1 BP, Caumes E et al. [Epidemiological features and incidence trends of primary cerebral lymphomas observed in 80 HIV-infected patients from 1983 to 1999]. *Pathol Biol (Paris).* 2001 Sep;49(7):572-5.
29. Gray F1 CF, Vallat-Decouvelaere AV, Scaravilli F. The Changing Pattern of HIV Neuropathology in the HAART Era. 2003 May [cited 62 (5)]; 429-40].
30. Jellinger KA SU, Drlicek M, et al. . Neuropathology and general autopsy findings in AIDS during the last 15 years. *Acta Neuropathol* 2000 Aug;100 (2) 213-20.
31. Del Valle L P-OS. HIV disorders of the brain: pathology and pathogenesis. 2006.
32. Gray F KC. The neuropathology of HIV infection in the era of Highly Active AntiRetroviral Therapy (HAART). *Brain Pathol.* 2003 Jan;13(1):79-83.
33. Walsh K1 TW, Megyesi J, et al. . HIV-1/AIDS neuropathology in a Canadian teaching centre. *Can J Neurol Sci.* 2004;31(2):235-41.
34. Scaravilli F BC, Gray F. . The Changing Pattern of HIV Neuropathology in the HAART Era *Brain Pathol.* 2007;17(2):197-208.
35. Dean D¹ BJ. Neuro-AIDS in the developing world. *Neurology* 2012;78(7):499-500.
36. Silva ACAL, Rodrigues BSC, Micheletti AMR, Tostes S, Meneses ACO, Silva-Vergara ML, et al. Neuropathology of AIDS: An Autopsy Review of 284 Cases from Brazil Comparing the

Findings Pre- and Post-HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy) and Pre- and Postmortem Correlation. *AIDS Research and Treatment*. 2012;2012:1-9.

37. Kranick SM¹ NA. Neurologic Complications of HIV-1 Infection and Its Treatment in the Era of Antiretroviral Therapy. *Continuum (Minneap Minn)* 2012;18:1319-37

38. Baker LM, Paul RH, Heaps-Woodruff JM, Chang JY, Ortega M, Margolin Z, et al. The Effect of Central Nervous System Penetration Effectiveness of Highly Active Antiretroviral Therapy on Neuropsychological Performance and Neuroimaging in HIV Infected Individuals. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2015;10(3):487-92.

39. Manji H, Jager HR, Winston A. HIV, dementia and antiretroviral drugs: 30 years of an epidemic. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2013;84(10):1126-37.

40. Tan I L¹ MJC. HIV-associated neurological disorders: a guide to pharmacotherapy. *CNS Drugs*. 2012;26(2):123-34.

41. Chen MF, Gill AJ, Kolson DL. Neuropathogenesis of HIV-associated neurocognitive disorders. *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2014;9(6):559-64.

42. BELL JE. An update on the neuropathology of HIV in the HAART era *Histopathology* 2004;45(6) 549-59

43. Anthony IC, Ramage SN, Carnie FW, Simmonds P, Bell JE. Accelerated Tau deposition in the brains of individuals infected with human immunodeficiency virus-1 before and after the advent of highly active anti-retroviral therapy. *Acta Neuropathologica*. 2006;111(6):529-38.

44. Uchihara T, Duyckaerts C, Seilhean D, Nakamura A, Lazarini Fo, Hauw J-J. Exclusive induction of tau2 epitope in microglia/macrophages in inflammatory lesions-tautwopathy distinct from degenerative tauopathies. *Acta Neuropathologica*. 2004;109(2):159-64.

45. Vermund SH, Domingues C-SB, Waldman EA. Causes of Death among People Living with AIDS in the Pre- and Post-HAART Eras in the City of São Paulo, Brazil. *PLoS ONE*. 2014;9(12):e114661.

46. Furlan SA¹ FM, Granzotti RB. . Phonological awareness abilities of a child with acquired immunodeficiency syndrome before and after speech therapy. *J Soc Bras Fonoaudiol* 2012;24(1):86-90.
47. Duarte MTC, Parada CMGdL, Souza LdRd. Vulnerability of women living with HIV/aids. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*. 2014;22(1):68-75.
48. Tross S, Feaster DJ, Thorens G, Duan R, Gomez Z, Pavlicova M, et al. Substance Use, Depression and Sociodemographic Determinants of HIV Sexual Risk Behavior in Outpatient Substance Abuse Treatment Patients. *Journal of Addiction Medicine*. 2015:1.
49. Gonzalez A, Mimiaga MJ, Israel J, Andres Bedoya C, Safren SA. Substance Use Predictors of Poor Medication Adherence: The Role of Substance Use Coping Among HIV-Infected Patients in Opioid Dependence Treatment. *AIDS and Behavior*. 2012;17(1):168-73.
50. Tross S, Feaster DJ, Thorens G, Duan R, Gomez Z, Pavlicova M, et al. Substance Use, Depression and Sociodemographic Determinants of HIV Sexual Risk Behavior in Outpatient Substance Abuse Treatment Patients. *Journal of Addiction Medicine*. 2015;9(6):457-63.
51. Martinella A, Lanzafame M, Bonometti MA, Gajofatto A, Concia E, Vento S, et al. Neurological complications of HIV infection in pre-HAART and HAART era: a retrospective study. *Journal of Neurology*. 2015;262(5):1317-27.
52. Tan IL, Smith BR, von Geldern G, Mateen FJ, McArthur JC. HIV-associated opportunistic infections of the CNS. *The Lancet Neurology*. 2012;11(7):605-17.
53. Pereira-Chiocola V L¹ VJE, Su C. . *Toxoplasma gondii* infection and cerebral toxoplasmosis in HIV-infected patients. *Future Microbiol* 2009;4(10):1363-79.
54. Xavier GA, Cademartori BG, Cunha Filho NAd, Farias NAdR. Evaluation of seroepidemiological toxoplasmosis in HIV/AIDS patients in the south of Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2013;55(1):25-30.
55. Nissapatorn V¹ SN. Parasitic infection in HIV infected individuals: Diagnostic & therapeutic challenges *Indian J Med Res* 2011;134(6):878-97.

56. Jarvis JN, Bicanic T, Loyse A, Namarika D, Jackson A, Nussbaum JC, et al. Determinants of Mortality in a Combined Cohort of 501 Patients With HIV-Associated Cryptococcal Meningitis: Implications for Improving Outcomes. *Clinical Infectious Diseases*. 2013;58(5):736-45.
57. Masliah E¹ DR, Mallory ME, Hansen LA. Changes in pathological findings at autopsy in AIDS cases for the last 15 years. *AIDS*. 200 Jan.7;14:69-75.
58. Elbirt D M-GK, Bezalel-Rosenberg S, et al. . HIV-Associated Neurocognitive Disorders (HAND). *Isr Med Assoc J*. 2015;17(1):54-9.
59. Grant I. Asymptomatic HIV-associated neurocognitive impairment increases risk for symptomatic decline. *Neurology*. 2014 June 10 82:2055-62.
60. Watkins C, Treisman G. Cognitive impairment in patients with AIDS – prevalence and severity. *HIV/AIDS - Research and Palliative Care*. 2015:35.
61. Murray KJ, Cummins D, Batterham M, Trotter G, Healey L, O'Connor CC. Does the informal caregiver notice HIV associated mild cognitive impairment in people living with HIV? *AIDS Care*. 2015:1-7.
62. Christo. Cognitive alterations associated with HIV-1 infection and AIDS. *Rev Assoc Med Bras* 2010;56(2):242-7.

Anexos

ANEXO A APROVAÇÃO DO COMITÊ

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FMRP-USP

RIBEIRÃO PRETO

Ribeirão Preto, 18 de dezembro de 2013

Ofício nº 4607 /2013

CEP/MGV

Prezados Senhores,

O trabalho intitulado "SUBSTRATOS NEUROPATOLÓGICOS DAS DESORDENS NEUROCOGNITIVAS ASSOCIADAS À INFECÇÃO PELO HIV", foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 380ª Reunião Ordinária realizada em 16/ 12/2013 e enquadrado na categoria: APROVADO bem como a dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com o Processo HCRP nº 12168/2013.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 466/ 12 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa. Atenciosamente.

DV. MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA

Coordenadora do Comitê de Ética em

Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores

NATHALIA LOPES SCHIAVOTELO

PROF.DR. JOSÉ EYMARD HOMEM PITTELLA

Depto. de Patologia e Medicina Legal

Comitê de Ética em Pesquisa HCRP e FMRP-USP

e Registro PB/CONEP n 5440

Campus Universitário — Monte Alegre

14048-900 Ribeirão Preto SP

(16) 3602-2228 cep@hcrp.usp.br www.hcrp.usp.br

ANEXO B INSTRUMENTO DE COLETA DOS DADOS CLINICOS**PROJETO NEUROAIDS**

CASO HC: PRONTUÁRIO:

I. Identificação

Nome (iniciais):

Gênero: Data de Nascimento: Idade:

Data do óbito:

Grupo de risco (uso de drogas, parceiros sexuais etc.):

II. Dados Clínicos

a) **Tempo de infecção pelo HIV** (diagnóstico – óbito):

b) **Uso de TARVAP?** () SIM () NÃO

Uso regular da TARVAP? () SIM () NÃO

Caso positivo, por quanto tempo?

Medicamentos?

c) **Comorbidades?** () SIM () NÃO

Alterações neurológicas/cognitivas? () SIM () NÃO

Quais?

d) **Infecções oportunistas** recentes e passadas no SNC e viscerais (especificando quais, data de início, diagnóstico e tratamento)?

e) **Exames de imagem do encéfalo:**

III. Sorologia**Contagem de CD4:** () SIM () NÃO

Nº. Linfócitos T CD4+	Data

CD8 % CD4/CD8 CD45	Data

Carga viral? () SIM () NÃO

Carga viral	Data

IV. Necropsia

Atestado de Óbito

Resumo dos Diagnósticos da Necro (anexar relatório)**Scan do encéfalo por RNM?** () SIM () NÃO

Diagnósticos do exame Neuropatológico (anexar relatório)

Protocolo para colher amostras do encéfalo em pacientes portadores de AIDS/infecção pelo HIV

X1 - Giro frontal médio
 X3 - Giro temporal superior
 X5 - Giro para-hipocampal e hipocampo
 X7 - Lobo occipital. Córtex calcarino
 X9 - Tronco do corpo caloso
 X11 - Núcleos da base
 X13 - Mesencéfalo
 X15 - Bulbo

X2 - Giro do cíngulo
 X4 - Núcleo basal de Meynert
 X6 - Lóbulo parietal inferior
 X8 - Joelho do corpo caloso
 X10 - Esplênio do corpo caloso
 X12 - Tálamo
 X14 - Ponte
 X16 - Cerebelo. Hemisfério cerebelar