



UNIVERSIDADE DO AMAZONAS
MESTRADO MULTIDISCIPLINAR EM
PATOLOGIA TROPICAL



**ANÁLISE MORFOMETRICA DAS CÉLULAS DENDRÍTICAS NA
MUCOSA ANAL DE PACIENTES HIV POSITIVOS E RELAÇÃO COM A
LESÃO INTRA-EPITELIAL E O CÂNCER**

ADRIANA GONÇALVES DAUMAS PINHEIRO GUIMARÃES

MANAUS
2007



Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE DO AMAZONAS
MESTRADO MULTIDISCIPLINAR EM
PATOLOGIA TROPICAL



ANÁLISE MORFOMETRICA DAS CÉLULAS DENDRÍTICAS NA
MUCOSA ANAL DE PACIENTES HIV POSITIVOS E RELAÇÃO COM A
LESÃO INTRA-EPITELIAL E O CÂNCER

ADRIANA GONÇALVES DAUMAS PINHEIRO GUIMARÃES

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Patologia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Patologia Tropical na área de concentração "Diagnóstico e Controle".

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira

Co-orientadora: Dra. Adriana Malheiro

MANAUS
2007



Ficha Catalográfica
(Catalogação na fonte realizada pela Biblioteca Central – UFAM)

Guimarães, Adriana Gonçalves Daumas Pinheiro

G963a Análise morfométrica das células dendríticas na mucosa anal de
pacientes HIV positivos e relação com a lesão intra-epitelial e o câncer /
Adriana Gonçalves Daumas Pinheiro Guimarães . - Manaus: UFAM,
2007.

112 f.; il.

Dissertação (Mestrado em Patologia Tropical) — Universidade
Federal do Amazonas, 2007.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira

Co-orientadora: Dra. Adriana Malheiro

1. Câncer 2. Epidemiologia 3. Neoplasias I. Ferreira, Luiz Carlos de
Lima II. Malheiro, Adriana III. Universidade Federal do Amazonas III.
Título

CDU 616-006.6(043.3)

ADRIANA GONÇALVES DAUMAS PINHEIRO GUIMARÃES

**ANÁLISE MORFOMETRICA DAS CÉLULAS DENDRÍTICAS NA
MUCOSA ANAL DE PACIENTES HIV POSITIVOS E RELAÇÃO COM A
LESÃO ESCAMOSA INTRA-EPITELIAL E O CÂNCER**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Patologia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Patologia Tropical na área de concentração “Diagnóstico e Controle”.

Aprovada em 13 de dezembro de 2007.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira – Presidente
Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. Fernando Luiz Westthal
Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. Evandro Barbosa Ribeiro
Universidade Estadual do Amazonas



Dedicatória

*Aos meus filhos,
Paulo, Roberta e Bárbara Daumas Kale Martins,
pela compreensão às inúmeras horas de ausência e
e estímulo a incessante luta na esperança de lhes legar
o exemplo e um futuro melhor.*

AGRADECIMENTOS

Aos pacientes que se doam à pesquisa na esperança de alcançarem a cura para suas dores nem sempre físicas, nem sempre abordáveis.

Ao prof. Dr. Oscar Tadeu Ferreira da Costa do departamento de Morfologia do JCB/UFAAM, pelas incansáveis horas em que se afastou de seus afazeres para construir as bases da análise morfométrica deste estudo e corrigir meus persistentes erros.

Aos orientadores Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira e Prof. Dr. Adriana Malheiro pelos ensinamentos, estímulo e exemplo ao persistirem na docência e na pesquisa apesar do tímido reconhecimento da sociedade.

Aos mestres patologistas da FMFAM José Ribamar de Araújo e Rosilene Viana de Andrade pela dedicação e compreensão dos meus prazos exíguos e incessantes solicitações de revisão histológica e sobremaneira pelo carinho dispensado durante esta jornada.

Aos técnicos da patologia da FMFAM, pela ajuda incondicional ao cumprimento dos objetivos deste trabalho, e por me receberem sempre com sorriso no rosto e uma palavra amiga.

As agências de fomento e a FMFAM por alocarem os recursos necessários à realização deste sonho.

*A coordenação e mestres do programa de Mestrado *strictu sensu* em Patologia Tropical da UFAAM pela confiança, ensinamentos e estímulos a conclusão deste estudo.*

Aos biólogos Roberto Moreira da Silva Júnior e Paula Emanuelle Vasco Hargreaves pela dedicação à bancada de imunohistoquímica e incansáveis horas de trabalho voluntário dedicadas a este projeto.

Aos alunos do projeto de pesquisa “Câncer Anal”, em especial a Beatriz, Bruno e Janaçara pelas horas de dedicação a este trabalho, compreensão aos momentos de tensão, por compartilharem a minha angústia e pelo ímpeto na realização deste estudo.

Aos amigos que souberam compreender minha ausência e esquecimentos, sem que me faltassem com o afeto e palavras de carinho nos momentos de angústia. Em especial às amigas Júnia Ferreira Dutra, Alita Moura de Lima e Gisele Resque Vieira Quad pela ajuda incondicional, pelas horas de insônia forçada, por não me deixassem esmorecer e por sempre me fazerem acreditar que era possível.

*Ao meu pai, Bento Daumas, *in memoriam*, pela herança do prazer pelo estudo e por seu olhar de carinho e admiração que me impulsionaram a persistir.*

A minha mãe, Sebastiana de Carvalho Gonçalves, pelo amor incondicional e pelo exemplo diário de luta, honestidade, dignidade e sabedoria ao criar, orientar e educar sozinha e honrosamente seus filhos, sem que esmorecesse de sua face o doce sorriso que a acompanha.

Ao meu marido José Jorge Pinheiro Guimarães pela compreensão às horas de isolamento, dedicação a nova família, pelo exemplo diário e sobretudo pelo amor que resiste bravamente aos infortúnios do cotidiano.

A Deus por me dar forças para honrar os compromissos assumidos e pelo dom a mim confiado no alívio das dores de seus filhos.

RESUMO

A incidência do câncer anal após a epidemia da aids na década de 80, apresentou elevação com características epidêmicas, passando de 0,8 a até 70 casos em cada 100.000 habitantes entre homens que fazem sexo com homens (HSH) HIV positivos. O câncer anal, à semelhança do cervical, é precedido pela neoplasia intra-epitelial. Os fatores que influenciam este desfecho são múltiplos, dentre os principais estão a infecção crônica pelo Papilomavírus humano, ser HIV positivo e apresentar alteração das células dendríticas na mucosa anal. No Brasil, o número de estudos abordando a relação entre as células dendríticas da mucosa anal e a neoplasia intra-epitelial (NIA) são exíguos. Foi realizado um estudo observacional analítico do tipo caso-controle não pareado envolvendo 125 pacientes, dentre os quais 70 eram HIV positivos, o estudo objetivou analisar morfometricamente o volume relativo das células dendríticas (DC) na mucosa anorretal e a relação com a neoplasia intra-epitelial anal e o câncer nos pacientes atendidos pela Fundação de Medicina Tropical do Estado do Amazonas (FMTAM). Os pacientes foram submetidos à anoscopia com magnificação de imagens (AMI) e biópsias direcionadas da mucosa anorretal para a análise anatomohistológica clássica e imunohistoquímica pelo emprego dos anticorpos anti-CD1a e anti-DC-SIGN (CD209) para a quantificação das DC da mucosa anal. Nos pacientes HIV positivos foi realizada a quantificação dos níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺ e da carga viral para o HIV-1. Para avaliar a associação entre as variáveis categóricas e o resultado do HIV utilizou-se o *odds ratio* e o teste do Qui-quadrado de *Pearson* ou *Fisher*. Na comparação de médias utilizou-se a análise de variância (ANOVA) ou teste t de *Student* e o teste de *Kruskal-Wallis* ou *Mann-Whitney* quando da distribuição não normal dos dados. O nível de significância considerado foi de 5% e o software utilizado foi o programa Epi-Info 3.3.2. No estudo, a prevalência global de NIA foi de 52,8%, significativamente maior entre os pacientes HIV positivos masculinos, adeptos do sexo anal receptivo e com histórico de doenças sexualmente transmissíveis. No grupo HIV positivo a prevalência de NIA foi de 66,7 %. Neste grupo, com NIA severa houve correlação forte entre a mediana das DC DC-SIGN⁺ e os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺. Não se observou correlação entre a carga periférica do HIV-1 e a mediana das DC, independente do uso da HAART. A presença de condiloma elevou a mediana das DC CD1a⁺ + DC-SIGN⁺ no grupo HIV negativo. Os pacientes HIV positivos apresentam risco elevado para o desenvolvimento de NIA em seus diversos graus de severidade.

Palavras chave: células dendríticas, CD1a, DC-SIGN, HIV, HPV, HAART, aids, neoplasia intra-epitelial anal, imunohistoquímica.

ABSTRACT

The anal cancer have been presented elevated incidence after the aids epidemy in the 80 age, with epidemic characteristic changing about 0,8 to 70 cases for 100.000 habitants, principally among men that make sex with men (MSM) HIV positive. Similar to the cervical cancer, the anal cancer is preceded by the intraepithelial neoplasia. The factors that influence this outcome are multiples, being the most important are chronic infection by Papilloma virus human (HPV), HIV, and present changes in the dendritics cells on the anal mucosa. In Brasil, have few studies about the relation between dendritics cells (DC) in the anal mucosa and intraepithelial neoplasia. It has been made an observational study case-control, not pareade, with analytic 125 patients, where 70 were positive HIV with and without HAART. This assignment has intended to analyze morfometrically the relative volume of the dendritics cells in the anal mucosa and the relationship between anal intraepithelial neoplasia and the cancer, in patients from Fundação de Medicina Tropical do Estado do Amazonas (FMTAM). These patients were submitted to anoscopy procedure with improve images and positioned biopsies of the anorectal mucosa to carry out the classic histopathology and immunohistochemistry analysis, by the employ of the antibodies against CD1a and DC-SIGN for the quantification of the anal mucosa DC. In the positive HIV patients were made a measurement of the serum levels of the CD4 cells and the viral load to the HIV-1. To evaluate the association among categorical variables and the result of HIV it has used odds ratio and Qui-square de Pearson's Test or Fisher. In the comparison of average it has used the variance analysis (ANOVA) or test t of Student and Kruskal-Walis' Test or Mann-Whitney these when of the not normal distribution of the data. Significance level considered belonged to 5 % and used software was the program Epi-Info 3.3.2. In the study, NIA global prevalence belonged to 52, 8 %, significantly larger among patients HIV positive, men's, followers of the receptive anal sex and with historical of sexually transmissible diseases. In the group HIV positive NIA prevalence belonged to 66, 7 %. In this group with severe NIA there was strong correlation between median of DC DC-SIGN+ and the serum levels of the CD4+ cells. Correlation between HIV-1's peripheric load was not observed and to DC' median, independent of the use of HAART. The presence of condiloma elevated for median of DC CD1a⁺ + DC-SIGN⁺ in the HIV negative group. The HIV positive patients present risk elevated for NIA development in their severity several degrees, needing accompaniment on specialized ambulatories.

Key words: Dendritics cells, CD1a, DC-SIGN, HIV, HPV, HAART, aids, anal intraepithelial neoplasia, imunohistochemistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E GRÁFICOS

Figura 1	Reto e canal anal – secção longitudinal.....	17
Figura 2	Proposta de mecanismo da carcinogênese mediada pelo HPV	24
Figura 3	Modelo de diferenciação das células dendríticas (DC)	32
Figura 4	Possíveis vias de interação das células de Langerhans da mucosa.....	34
Figura 5	Fluxograma de execução dos procedimentos.....	50
Figura 6	Mucosa anal	52
Figura 7	DC CD1a ⁺	57
Figura 8	503/06: DC CD1a ⁺	57
Figura 9	011/06: DC DC-SIGN ⁺	58
Figura 10	466/07: DC DC-SIGN ⁺	58
Figura 11	1130/07: DC CD1a ⁺	59
Figura 12	033/06: DC DC SIGN ⁺	59
Gráfico 1	Distribuição segundo os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4 ⁺ nos pacientes HIV/HAART atendidos na FMTAM.....	81
Gráfico 2	Distribuição da carga viral do HIV-1 (cópias/mm ³) nos subgrupos de pacientes HIV/HAART atendidos na FMTAM.....	84
Gráfico 3	Distribuição da carga viral (Log) em relação a mediana de DC CD1a ⁺ nos pacientes atendidos na FMTAM	86
Gráfico 4	Mediana do volume relativo das DC CD1a ⁺ , DC DC-SIGN ⁺ , DC CD1a ⁺ /DC-SIGN ⁺ e DC CD1a ⁺ + DC-SIGN ⁺ nos pacientes atendidos na FMTAM	86
Gráfico 5	Distribuição etária em relação a mediana das DC CD1a ⁺ dentre os grupos de pacientes atendidos na FMTAM.....	88
Gráfico 6	Distribuição segundo os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4 ⁺ em relação à mediana das DC CD1a ⁺ dos pacientes HIV positivos portadores de NIA I atendidos na FMTAM	93
Gráfico 7	Distribuição segundo os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4 ⁺ em relação à mediana das DC DC-SIGN ⁺ dos pacientes HIV positivos portadores de NIA III atendidos na FMTAM.....	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição, segundo a presença de infecção pelo HIV, dos dados sócio comportamentais dos pacientes atendidos na FMTAM	62
Tabela 2	Mediana de idade quanto à presença de NIA e ao diagnóstico do HIV nos pacientes atendidos no ambulatório da FMTAM.....	63
Tabela 3	Distribuição segundo a presença de infecção pelo HIV em relação ao uso de drogas nos pacientes atendidos na FMTAM	65
Tabela 4	Distribuição, segundo à presença de infecção pelo HIV, do comportamento sexual dos pacientes atendidos na FMTAM.....	66
Tabela 5	Distribuição segundo à opção sexual e ocorrência de NIA nos grupos de pacientes atendidos na FMTAM.....	68
Tabela 6	Distribuição dos achados à histopatologia em relação ao comportamento sexual dos pacientes atendidos na FMTAM.....	69
Tabela 7	Distribuição, segundo a presença de infecção pelo HIV, do histórico de DST nos pacientes atendidos na FMTAM.....	70
Tabela 8	Distribuição dos achados à histopatologia segundo o histórico de DST entre grupos e subgrupos de pacientes atendidos na FMTAM.....	71
Tabela 9	Distribuição, segundo os subgrupos dos pacientes HIV positivos, do histórico de DST e diagnóstico do HPV nos pacientes atendidos na FMTAM.....	72
Tabela 10	Distribuição, segundo os subgrupos dos pacientes HIV positivos, do diagnóstico do HPV nos pacientes atendidos na FMTAM.....	72
Tabela 11	Distribuição, segundo resultado do HPV geral, da ocorrência de patologia anorretal e de DST dos pacientes atendidos na FMTAM.....	73
Tabela 12	Distribuição dos dados epidemiológicos e da mediana de células dendríticas segundo o diagnóstico molecular do HPV nos pacientes atendidos na FMTAM.....	74
Tabela 13	Distribuição da ocorrência da Patologia anorretal e dos laudos histopatológicos segundo a infecção pelo HIV nos pacientes atendidos na FMTAM.....	76
Tabela 14	Distribuição segundo os laudos histopatológicos quanto à ocorrência de infecção pelo HIV nos grupos de pacientes atendidos na FMTAM.....	76
Tabela 15	Ocorrência de NIA segundo os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4 ⁺ dos pacientes HIV positivos atendidos na FMTAM.....	79
Tabela 16	Distribuição segundo os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4 ⁺ , quanto à ocorrência de NIA, nos grupos de pacientes HIV positivos atendidos na FMTAM.....	79
Tabela 17	Ocorrência de HPV geral segundo os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4 ⁺ nos pacientes HIV positivos atendidos na FMTAM.....	80

Tabela 18	Distribuição, segundo a carga viral (cópias/mm ³) do HIV-1, dos laudos histopatológicos nos subgrupos de pacientes HIV positivos atendidos na FMTAM.....	82
Tabela 19	Distribuição das subpopulações de DC segundo os grupos e subgrupos de pacientes atendidos na FMTAM.....	84
Tabela 20	Distribuição, segundo exame histopatológico, da mediana das DC CD1a ⁺ e DC-SIGN ⁺ dos pacientes atendidos na FMTAM.....	86
Tabela 21	Distribuição da mediana das subpopulações de DC CD1a ⁺ e DC DC-SIGN ⁺ nos grupos de pacientes HIV positivos e negativos quanto à ocorrência de NIA.....	87
Tabela 22	Distribuição, segundo a presença de condiloma, da mediana das DC CD1a ⁺ e DC DC-SIGN ⁺ dos pacientes HIV positivos e negativos atendidos na FMTAM.....	89
Tabela 23	Ocorrência de NIA nos laudos histopatológicos segundo os subgrupos de pacientes HIV positivos atendidos na FMTAM.....	93
Tabela 24	Distribuição, segundo a regressão logística, dos fatores de riscos analisados nos pacientes atendidos na FMTAM.....	93

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Equivalência de nomenclaturas citológicas e histológicas das lesões pré invasivas escamosas cervicais.....	19
Quadro 2	Classificação dos tipos de HPV de acordo com o potencial oncogênico.....	23
Quadro 3	Classificação histopatológica das amostras anorretais.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ADCinp	Adenocarcinoma invasivo na histopatologia
ADCisp	Adenocarcinoma <i>in situ</i> na histopatologia
Ags	Antígenos
Aids	Síndrome da imunodeficiência adquirida
AMI	Anuscopia com magnificação de imagens
APC	Células apresentadoras de antígenos
AR	Adeptos do anal receptivo
ASIL	<i>Anal Squamous Intraepithelial Lesion</i> (lesão intra-epitelial escamosa anal)
CD	Cluster of differentiation
CD1a	Membro da família do grupo I das proteínas CD1. Glicoproteína expressa na superfície de células apresentadoras de antígenos
CEPinp	Carcinoma epidermóide invasivo na histopatologia
CD ₄ ⁺	Grupo especializado de linfócitos T que expressam o receptor CD ₄ , também chamado linfócito T <i>helper</i>
CD ₈ ⁺	Grupo especializado de linfócitos T que expressam o receptor CD ₈ , também chamado linfócito T citotóxico
CEPisp	Carcinoma epidermóide <i>in situ</i> na histopatologia
Céls/mm ²	Células por milímetro ao quadrado
CLR	<i>C-type lectin receptors</i> (Receptor de lecitina tipo-c)
CMV	Citomegalovírus
CSIL	<i>Cervical Squamous Intraepithelial Lesions</i> (lesão intra-epitelial escamosa cervical)
CTL	<i>Cytotoxic T Lymphocyte</i> (linfócitos T citotóxico)
DST	Doença sexualmente transmissível
DC	Células Dendríticas
DC-SIGN	DC-specific, ICAM-3 grabbing, nonintegrin
FCECON	Fundação Centro de Controle de Oncologia do Estado do Amazonas
FMTAM	Fundação de Medicina Tropical do Amazonas
Fms-like	Soluble Fms-like tyrosine kinase-1
FLT3	<i>fms-like tyrosine kinase 3 ligant</i>
HAART	<i>High activity antiretroviral therapy</i> (terapia anti-retroviral de alta potência)
HIV	<i>Human immunodeficiency vírus</i> (vírus da imunodeficiência humana)
HPV	<i>Human Papillomavírus</i> (papilomavírus humano)
HSH	Homens que fazem sexo com homens
HSHM	Homens que fazem sexo com homens e mulheres
HSIL	<i>High Squamous Intraepithelial Lesion</i> (lesão intra-epitelial escamosa de alto grau)
HTR	Homens ou mulheres heterossexuais
HSV	Herpes simples vírus
IC	Intervalo de confiança
ICAM	intercellular adhesion molecule (molécula de adesão intercelular)
IL	Interleucinas
LC	<i>Langerhan's cells</i> (células de Langerhan's)
LFA-1	<i>leucocyte function associated molecule-1</i> (leucócito com função associada a molécula-1)
LSIL	<i>Low Squamous Intraepithelial Lesion</i> (lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau)
CLR	<i>C-type lectin receptors</i> (Receptor de lecitina tipo-c)

MCLR	<i>C-type lectin receptors manann type</i> (receptor de lecitina c do tipo manose)
MD-DC	Célula dendrítica derivada de monócitos
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i> (complexo principal de histocompatibilidade)
MSM	Mulheres que fazem sexo com mulheres
MSMH	Mulheres que fazem sexo com mulheres e homens
<i>Nef</i>	Negative factor (fator negativo)
NIA	Neoplasia Intra-epitelial anal
NIA I	Neoplasia Intra-epitelial anal de baixo grau
NIA II	Neoplasia Intra-epitelial anal de moderado grau
NIA III	Neoplasia Intra-epitelial anal de alto grau
NIC	Neoplasia Intra-epitelial cervical
NK	<i>Natural Killer</i>
NIC I	Neoplasia Intra-epitelial cervical de baixo grau
NIC II	Neoplasia Intra-epitelial cervical de moderado grau
NIC III	Neoplasia Intra-epitelial cervical de baixo grau
OR	<i>Odds ratio</i> (razão de chances)
PBS	Phosphate buffered saline
RANTES	Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted. CCL5
PCR	Reação de cadeia da polimerase
RNA	Ácido ribonucléico
RR	Risco relativo
R5	Vírus tipo 1 do HIV que utiliza o receptor CCR5
SIV	Simian immunodeficient virus (vírus da imunodeficiência dos símios)
Tat	<i>Transcriptional transactivator</i> (fator de transcrição) do HIV
TGF- β	Fator β de crescimento e transformação
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TILs	<i>tumor infiltrating lymphocytes</i>
TNF- α	Fator α de necrose tumoral
UFAM	Universidade Federal do Amazonas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
	2.1 Noções anatômicas sobre o canal anal	17
	2.2 A neoplasia intra-epitelial cervical e anal	18
	2.3 Epidemiologia da neoplasia intra-epitelial e do câncer	20
	2.3.1 Os fatores de risco relacionados a neoplasia intra-epitelial e o câncer.....	21
	2.4 Estrutura do HPV e patogênese viral	23
	2.5 Epidemiologia e papel do HIV na neoplasia intra-epitelial anal e no câncer.....	25
	2.5.1 O papel da HAART na progressão da NIA/câncer	26
	2.6 O Sistema imune e caracterização das células dendríticas	28
	2.6.1 Expressão de receptores e maturação das células dendríticas	29
	2.6.2 Características fenotípicas e funcionais das LC	32
	2.6.3 Células dendríticas não-LC, co-receptores e a infecção pelo HIV ...	35
	2.6.3.1 O papel da DC-SIGN nas infecções via DC	38
	2.6.4 Disposições das DC no epitélio vaginal e retal	40
	2.6.5 Variações da frequência das células dendríticas e o risco de câncer....	41
	2.6.6 A secreção de citocinas em pacientes infectados pelo HIV	42
3	OBJETIVOS	46
	3.1 Geral	46
	3.2 Específicos	46
4	MATERIAIS E MÉTODOS	47
	4.1 Modelo de estudo	47
	4.2 Universo de estudo	47
	4.2.1 População de referência	47
	4.2.1.1 População de estudo	48
	4.2.2 Amostra	48
	4.2.2.1 Cálculo da amostra	48
	4.3 Análise estatística	49
	4.3.1 Critérios de elegibilidade	49
	4.3.1.1 Critérios de inclusão	49
	4.3.1.2 Critérios de exclusão	49
	4.4 Procedimentos	50
	4.4.1 Fluxograma de execução	50
	4.4.2 Coleta	50
	4.4.3 Exame proctológico	51
	4.4.3.1 Anuscopia com Magnificação de Imagens (AMI)	51
	4.4.4 Análise histopatológica	53
	4.4.5 Análise imunohistoquímica	54
	4.4.6 Determinação da densidade de volume (Vv) das células dendríticas..	56
	4.4.7 Diagnóstico sorológico do HIV	60
	4.4.8 Contagem de linfócitos T CD ₄ ⁺ e determinação da carga viral	60
	4.5 Considerações éticas	61
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	62
6	CONCLUSÕES.....	95
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
	APÊNDICES.....	107
	ANEXOS.....	111

1. INTRODUÇÃO

O câncer anal é uma patologia rara na população geral, com incidência em torno de 0,8/100.000 habitantes. Essa incidência tem aumentado nas últimas décadas, ascendendo cerca de trinta vezes em pacientes adeptos do sexo anal receptivo (AR); chegando, após o início da epidemia de aids, a 70/100.000 em homens HIV positivos que fazem sexo com homens (HSH) (PALEFSKY et al., 1998a). Segundo Loiola (2007) 25 % dos pacientes com câncer anal são HIV positivos.

O câncer anal, à semelhança do cervical, tem como seu estágio precedente a neoplasia escamosa intra-epitelial e a associação com o papilomavírus humano (HPV) têm sido demonstradas em torno de 80 % das amostras dos tumores anais, sendo os tipos 16 e 18 os mais prevalentes (PALEFSKY et al., 1991; MARTINS, 2005).

No Brasil, a incidência do câncer anal não é bem documentada visto que é publicada de forma conjunta com os tumores do cólon e reto, mais prevalentes. No Amazonas, o câncer do ânus teve uma prevalência variando de 0,1 a 2,4 % nos últimos cinco anos, tendo sido mais prevalente no ano de 2002 (FCECON, 2005). Não existem dados oficiais nacionais sobre a incidência de câncer anal em pacientes com HIV/aids.

Um dos fatores relevantes para o desfecho do câncer anal, nos pacientes imunodeficientes é o comprometimento da imunidade celular, principalmente das células dendríticas (SOBHANI et al., 2004). Essas células estão estrategicamente dispostas nos sítios de interação entre o indivíduo e o meio e, por sua característica de capturar e apresentar antígenos às células T CD4⁺, para desencadear a resposta imune específica, carregam as partículas virais até as estações linfáticas, favorecendo a infecção das células T CD4⁺ e a desregulação do sistema imune (PACHIADAKIS et al., 2005).

Em pacientes imunocompetentes portadores de condilomas anais, as células dendríticas encontram-se aumentadas na mucosa anal. Porém, nos pacientes imunocomprometidos e pacientes portadores do câncer anal, as células dendríticas residentes diminuem, apresentando correlação direta com os níveis de células T CD4⁺ e inversa com a carga viral do HIV (SOBHANI et al., 2001). Em um estudo nacional realizado em 2006, Nadal e colaboradores descreveram a diminuição da frequência das células dendríticas em pacientes HIV positivos com câncer anal.

Desta forma, o presente estudo buscou avaliar a relação entre a frequência de células dendríticas da mucosa anal de pacientes HIV positivos, através da expressão de marcadores imunohistoquímicos, com a lesão escamosa intra-epitelial anal e o câncer na principal instituição pública de apoio a pacientes HIV positivos de Manaus-AM.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Noções anatômicas sobre o canal anal

O canal anal, porção terminal do aparelho digestivo, tem a função de controlar a eliminação dos subprodutos do processo digestório. Mede cerca de 2,5 cm e inicia-se à altura da linha pectínea, do latim *pecten*, pente ou crista de galo, e termina no orifício anal ou ânus, sendo revestido por pele completa que se abre na região perineal em forma de fenda longitudinal (DINIZ, 1999).

O ânus é precedido, por um segmento revestido por pele modificada desprovida de pêlos, o anoderma, até a linha pectínea (Figura 1). O epitélio de revestimento do canal anal varia conforme sua localização anatômica, sendo do tipo estratificado escamoso abaixo da linha pectínea e colunar simples acima desta (NETTER, 1999).

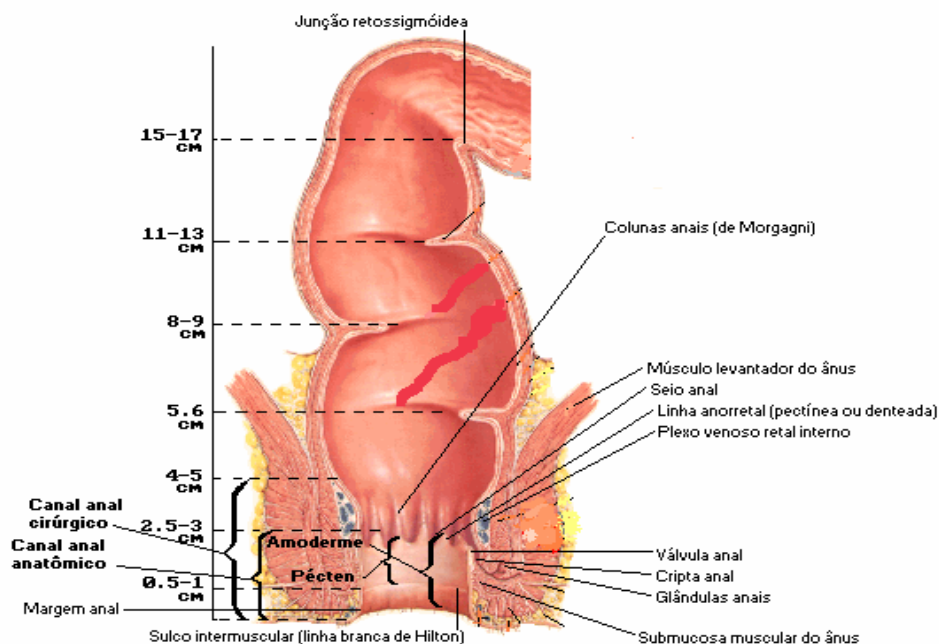


Figura 1 – Reto e canal anal- secção longitudinal

Fonte: Modificado de Netter (1999).

Variadas afecções proctológicas acometem a região suprapectínea, estando anatomicamente situadas no reto, mas comportando-se como pertencentes ao canal anal, e estando dentro dos limites musculares deste (DINIZ, 1999).

2.2 A Neoplasia intra-epitelial cervical e anal

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

Diversos sistemas de classificação citológica e histológica dos graus de neoplasia intra-epitelial foram descritos, causando equívocos no emprego dos termos na prática clínica. Russomano (2004) organizou um quadro com os principais sistemas visando à melhor compreensão dos estágios e equivalências do câncer cervical uterino (Quadro 1).

Quadro 1

Equivalência de nomenclaturas citológicas e histopatológicas das lesões pré-invasivas escamosas cervicais.

CITOLOGIA				HISTOLOGIA	CITOLOGIA
PAPANICOLAU	CID OMS (1952-1973)	RICHARDT (1968)	BETHESDA (1989)	RICHARDT (1990) ANÁLOGA A BETHESDA	BETHESDA REVISÃO 2001
Classe I	-		Normal		
Classe II	-		Alterações benignas		
	Displasia leve	NIC I	LSIL	NIC de baixo grau	LSIL
Classe III	Displasia moderada	NIC II			
	Displasia acentuada	NIC III	HSIL	NIC de alto grau	HSIL
Classe IV	Carcinoma in situ				
Classe V	Câncer	Câncer	Câncer	Câncer	

Legenda: NIC I-Neoplasia intra-epitelial cervical de baixo grau; NIC II-Neoplasia intra-epitelial cervical de grau moderado; NIC III-Neoplasia intra-epitelial cervical de alto grau; LSIL-Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (*low grade squamous intraepithelial lesion*); HSIL-Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (*high grade squamous intraepithelial lesion*).

Fonte: Baseado em Russomano (2004).

A neoplasia intra-epitelial já é bem estabelecida como precursora do câncer cervical e parece desempenhar papel semelhante na gênese do câncer anal. Sendo assim, a transposição do conhecimento da oncogênese do câncer cervical para o câncer escamoso anal foi apresentada por compartilharem características biológicas, inclusive sob aspectos histopatológicos e anatômicos, como a zona de transição epitelial, o papel do HPV e similaridades entre a lesão intra-epitelial escamosa cervical e a anal, consideradas precursoras dos cânceres cervicais e anais, respectivamente (MELBYE; SPROGEL, 1991; PALEFSKY et al., 1991; ZAKI et al., 1992).

A importância clínica em graduar a gravidade das lesões displásicas, ou intra-epiteliais, reside no fato do risco do desenvolvimento do carcinoma escamoso aumentar conforme a neoplasia intra-epitelial evolui para graus mais severos. Todo carcinoma

escamoso cervical desenvolve-se de NIA III e, apesar da compreensão da história natural da lesão intra-epitelial escamosa anal (ASIL) não estar concluída, é aceito que a neoplasia intra-epitelial de grau severo (NIA III) preceda o câncer anal escamoso pelas similaridades com o câncer cervical (MARTINS, 2005).

Chin-Hong et al. (2005) postulam que a evolução para o desfecho do carcinoma anal ocorra entre 9 a 10 anos. Apesar da progressão da NIA de neoplasia intra-epitelial anal leve (NIA I) a NIA III nem sempre ocorrer, ela é clinicamente importante, conforme demonstrado por Palefsky et al. (1998b), quando reporta 62 % de NIA I em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e, 36 % de homossexuais masculinos, HIV negativos, com progressão da lesão para NIA III em 2 anos.

2.3 Epidemiologia da neoplasia intra-epitelial e do câncer anal

O câncer anal é incomum na população geral, com uma incidência de 0,8 casos para cada 100.000 habitantes, sendo até cinco vezes mais incidente em mulheres e, após a sexta década de vida (FRIEDMAN et al., 1998; LOIOLA, 2007).

Após a epidemia de AIDS, a prevalência do câncer anal entre homens que fazem sexo com homens (HSH) tornou-se maior que a do câncer cervical, antes do emprego da técnica do Papanicolau para o seu rastreamento (PALEFSKY; HOLLY, 1995), sendo impulsionada a 35/100.000 em HSH HIV negativos a até 80/100.000 nos HSH HIV positivos com baixos níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺ (MARTINS, 2005; VOLBERDING, 2000), passando, nestes grupos, a ser mais prevalente na terceira e quarta décadas de vida (FRIEDMAN et al., 1998).

No Brasil, os dados epidemiológicos do câncer anal são publicados em conjunto com as demais neoplasias do cólon e reto, mais prevalentes, dificultando a análise epidemiológica (INCA, 2007).

Na Fundação Centro de Oncologia do Estado do Amazonas (FCECON), nos últimos 05 anos, a incidência de câncer de ânus e canal anal variou de 0,1 a 2,4 %, sendo ligeiramente mais prevalentes em homens e em sua maioria do tipo escamoso, e não houve registro de casos em pacientes HIV positivos (FCECON, 2005).

A busca da explicação sobre os motivos pelos quais a prevalência do câncer cervical e anal ser tão discordante da observada no câncer de vulva, vagina e pênis, visto que todos são relacionados ao HPV e à atividade sexual, impulsionaram o pesquisador a questionarem possíveis fatores em comum, sendo então apontado a ocorrência da zona de transição epitelial presente nos dois epitélios (STEENBERGEN et al., 2005).

2.3.1 Os fatores de risco relacionados à neoplasia intra-epitelial e o câncer

Inúmeros fatores têm sido imputados no desfecho NIA/câncer, com importâncias díspares entre os estudos, em especial os relacionados aos fatores sócio-comportamentais, dentre eles a multiplicidade de parceiros sexuais, o tabagismo, as doenças sexualmente transmissíveis (DST) e a prática do sexo anal receptivo (AR). Fatores biológicos como a presença de NIA, a frequência das células dendríticas na mucosa e a imunodepressão sistêmica são também apontados.

De acordo com Daling et al. (1987); Kreuter et al. (2005), o risco relativo (RR) de câncer anal em tabagistas é de 7,7 em mulheres e de 9,4 em homossexuais masculinos, dados discordantes dos estudos de Chin-Hong et al. (2005), onde localização geográfica e tabagismo não foram associados a ASIL.

Entre homossexuais HIV negativos, adeptos da prática do sexo anal receptivo (AR), Chin-Hong et al. (2005) encontraram uma elevada prevalência de ASIL, sendo 15 % de NIA I e 5 % de NIA III e taxas de detecção do HPV entre 20 % e 57 % respectivamente. O risco de

desenvolvimento do câncer quando relacionado com AR tem apresentado conflitos entre os dados dos autores, não se mostrando como fator de risco isolado para Sobhani et al. (2001; 2004), embora os estudos de Daling et al. (1987) tenham relatado NIA III em 37 % dos HSH homossexuais ou bissexuais e em apenas 1 caso no grupo controle, representando risco de 33,1 para o grupo masculino e de 1,8 para o feminino. No Amazonas, Avi et al. (2005) encontraram prevalência de 17,4 % de ASIL em pacientes portadoras de neoplasia intra-epitelial cervical adepts à prática.

Dentre os pacientes HIV positivos homens que fazem sexo com homens (HSH), Palefsky et al. (1997) relataram um RR de 3,7 para o NIA III e de 2,6 nos HSH HIV negativos. A estimativa da progressão à NIA III foi de 49 % em 04 anos entre os HSH HIV positivos e, de 17 % nos demais. Segundo Palefsky et al. (2002), a taxa de NIA III, mesmo com o descontinuar do sexo anal receptivo, tende a se manter.

O papel das doenças sexualmente transmissíveis foi abordado por Daling et al. (1987) que descreveram um risco de 17,2 % para pacientes com histórico de gonorréia e de 2,3 % para *Chlamydia trachomatis* e *Herpes simplex* tipo 2 em mulheres sem história de verrugas genitais. Nos indivíduos heterossexuais com verrugas genitais, o RR de câncer anal foi de 32,5 (DALING et al., 1987), sendo também recentemente reportado como elevado entre pacientes HIV positivos heterossexuais (PIKETTY et al., 2003; WILKIN et al., 2004).

Estudos abordando a relação do HPV com a NIA e o câncer, independente do perfil sorológico do HIV, têm recebido ênfase nas últimas décadas, apesar de desde 1976, Pfister ter imputado ao HPV o fato de ser o principal agente iniciador da lesão intra-epitelial cervical (NIC) e do carcinoma escamoso cervical (*apud* PALEFSKY et al., 1991), sendo mais recentemente implicado na maioria dos tumores do trato anogenital, com prevalências díspares.

2.4 Estrutura do HPV e patogênese viral

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

Mais de 40 tipos de HPV foram descritos como capazes de infectar o trato anogenital humano de ambos os sexos. Os tipos são classificados em relação a sua taxonomia baseados na homologia entre as seqüências de nucleotídeos do gene L1, região mais conservada do genoma do HPV (DOORBAR, 2005). A classificação do risco oncogênico é baseada na frequência de associação dos tipos com as neoplasias epiteliais de alto grau e o carcinoma cervical (Quadro 2).

Quadro 2

Classificação dos tipos de HPV de acordo com o potencial oncogênico.

CLASSIFICAÇÃO DE RISCO	TIPOS DE HPV
Alto risco	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82
Provável alto risco	26, 53, 66
Baixo risco	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, CP6108
Risco indeterminado	34, 57, 83

Fonte: Munoz et al. (2003).

O desfecho oncogênico não ocorre em mais de 80 % dos casos, por evolução frusta, com regressão às características epiteliais normais em torno da décima sexta semana após a infecção, onde se observa a infiltração de linfócitos T citotóxicos (CTL) na mucosa infectada (PALEFSKY; HOLLY, 2003; STEENBERGER et al., 2005).

Baseado nos conhecimentos atuais, Steenbergen et al. (2005) propuseram um modelo

para compreensão da carcinogênese mediada pelo HPV (Figura 2).

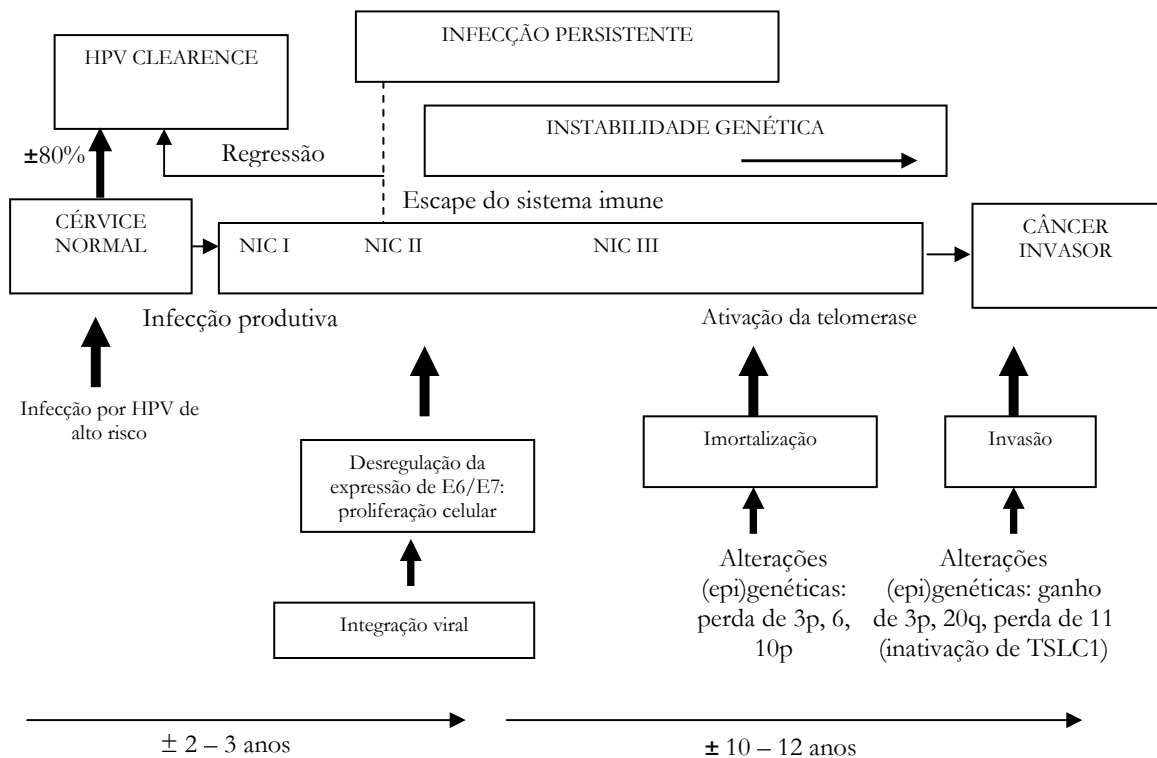


Figura 2 - Proposta de mecanismo da carcinogênese cervical mediada pelo HPV.

Legenda: NIC I: Neoplasia intra-epitelial cervical de grau leve, NIC II: Neoplasia intra-epitelial cervical de grau moderado e NIC I: Neoplasia intra-epitelial cervical de grau severo.

Fonte: Steenbergen et al. (2005).

Pacientes homossexuais e bissexuais masculinos HIV negativos têm apresentado risco elevado de NIA, com prevalência de 60 a 70 % de HPV (PALEFSKY et al., 1998a). Chin-Hong et al. (2005) observaram que a taxa de NIA III nos pacientes mais velhos não se mostrou mais elevada do que a observada nos jovens, indicando o caráter não-cumulativo da infecção, quando mediado por um sistema imune hígido sujeito a freqüentes exposições virais (CHIN-HONG et al., 2005).

Em recente análise multivariada sobre os fatores risco associados ao condiloma e a displasia, em pacientes HIV positivos, apenas a história de lesão anal associada ao HPV (OR=2,82) e AR (OR=4,29) foram significativas, não havendo relação com características ou

estágios do HIV, geografia, tempo de conhecimento do perfil sorológico, ou uso de HAART (ABRAMOWIT et al., 2007).

Apesar dos esforços, os pesquisadores ainda não conseguiram demonstrar se o HPV é o fator determinante ou um co-fator na gênese do câncer anal (NADAL et al., 2006a).

A interação direta HPV-HIV tem sido demonstrada mesmo em pacientes sem alterações nos níveis de linfócitos T CD4⁺, onde partes do genoma do HIV, como a proteína *tat*, potencializariam a expressão de E6 e E7 do HPV (VERNON et al., 1993). Mas, segundo Palefsky (1997), a presença do HPV, o número de tipos detectados e a quantidade de DNA são inversamente proporcionais aos níveis periféricos de células T CD4⁺, tornando os pacientes mais propensos a desenvolverem NIA III, sugerindo que a imunossupressão influencie na patogênese.

2.5 Epidemiologia e papel do HIV na neoplasia intra-epitelial anal e no câncer

Em todo o mundo, a infecção pelo vírus do HIV estendeu-se primariamente como resultado da exposição sexual através das superfícies mucosas (JAMESON et al., 2002).

No Brasil, existem mais de 433.000 casos de aids relatados, sendo 75 % ocorridos na faixa etária mais produtiva de 25 a 49 anos. Dos casos de aids, 33,1 % foram reportados entre homossexuais e bissexuais, 28,2 % entre heterossexuais e 20,8 % decorrentes da necessidade de transfusão de hemocomponentes. No Amazonas, desde 1980, foram notificados 3.887 casos de aids, com 264 casos novos em 2006 (BRASIL, 2007 b). Desses aproximadamente 3660 pacientes estão em acompanhamento na Fundação de Medicina Tropical do Estado do Amazonas (FMTAM).

O câncer é uma significativa causa de mortalidade em pessoas com HIV. Segundo

Spamo et al. (2002) apud Fernandez (2003), 30 % a 40 % desses pacientes irão desenvolver alguma doença maligna durante a vida. O câncer anal é descrito nesta população como “malignidade associada a aids” ou “câncer oportunista” (FERNANDEZ, 2003).

A incidência de câncer anal foi descrita por Melbye et al. (1994) como vinte vezes mais freqüente em indivíduos HIV positivos. Na análise de 11 Estados americanos, o risco do câncer anal entre mulheres HIV positivas foi de 6,8, e de 37,9 para homens, elevando-se a 134 e para 162,7 respectivamente, quando se considera apenas indivíduos com menos de 30 anos (KLENCKE; PALEFSKY, 2003).

No Brasil, Nadal et al., (2006a), descreveram o câncer anal em pacientes HIV positivos, como seis vezes mais freqüente no sexo masculino e, ocorrendo duas décadas mais cedo do que a média de idade do grupo controle.

No Amazonas, Costa e Silva; Ferreira, (2006), descreveram, através da citologia, a NIA em 23,81 % de pacientes transplantados renais, revelando a importância do acompanhamento das lesões em outras populações de pacientes imunossuprimidos.

Kreuter et al. (2005) e Manzione, et al. (2003) descreveram neoplasia intra-epitelial anal em 19 % dos pacientes HIV positivos, com prevalência de 30 % de NIA III. Nestes pacientes a média de linfócitos T CD4⁺ foi de 454,4 cél/μl, com carga viral média de 5643 cópias/mL. Apenas Sobhani et al., (2004), apontou a carga viral como ferramenta de valor na seleção de pacientes com risco elevado para o desenvolvimento da neoplasia intra-epitelial anal.

2.5.1 O papel da HAART na progressão da NIA/câncer

A progressão de NIA III ao câncer ocorre em torno de uma década, tempo que antes do desenvolvimento da terapia anti-retroviral de alta potência (*High Active Antiretroviral*

Therapy - HAART) os pacientes HIV positivos não dispunham, devido à elevada mortalidade por infecções oportunistas, o que limitava a mensuração dos riscos relacionados à progressão da NIA ao câncer. A ampliação do acesso da população aos esquemas HAART são responsáveis pela queda da mortalidade e morbidade na maioria dos países, porém a incompleta restauração imune, associada à prolongada exposição aos vírus oncogênicos e a instabilidade genômica, podem resultar em prejudicada vigilância imune e subsequente elevação da incidência de tumores (FERNANDEZ, 2003).

Na era pré-HAART, os principais fatores de risco para o câncer anal, entre HIV positivos HSH, eram a infecção pelo HPV e a imunossupressão (PALEFSKY et al., 1998a, 1998b, 1998c). A imunossupressão entre adultos HIV positivos, exceto em mulheres jovens, era mensurada pelos níveis de células T CD4⁺ e associada à alta prevalência de NIC, NIA e progressão rápida à NIA III, onde a força desta relação parece mais relacionada às células T CD4⁺ do que a carga viral do HIV, refletindo uma maior importância da disfunção imune para este desfecho (PALEFSKY; HOLLY, 2003).

A implementação da HAART foi acompanhada do aumento das taxas de ASIL e atribuída à maior sobrevida, facilitação da sua progressão pela imunossupressão e ineficiente ação da HAART sobre o HPV (PALEFSKY et al., 1998a; ABRAMOWITZ et al., 2007). Estudos anteriores, com tempo de seguimento menor, já mostravam a elevação das taxas de NIA neste grupo, com modificação da taxa de NIA III em 76 % e regressão a NIA I em apenas 22 % dos pacientes (PALEFSKY et al., 1998a). Num estudo recente Palefsky et al. (2005), documentaram a progressão da prevalência da NIA de 36 %, entre HSH HIV positivos, para 81 %. A elevação dos casos também foi descrita entre pacientes HSH HIV negativos.

Segundo Doorbar (2005), apesar da imunossupressão aumentar o risco de desenvolvimento de NIA III, uma vez estabelecida a neoplasia intra-epitelial, fatores

genéticos como os induzidos pelas proteínas E6 e E7 do HPV parecem desempenhar um papel mais direto na progressão da NIA ao câncer (DOORBAR, 2005), e uma vez instaladas as mutações, a reconstrução do sistema imune pela HAART não se acompanha da reconstrução da resposta imune específica ao HPV, como ocorre com outros patógenos (PALEFSKY; HOLLY, 2003).

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

Apesar do possível aumento da incidência da NIA ter uma parcela apoiada no maior acesso aos testes diagnósticos, o crescimento da patologia é alarmante e vem encorajando a implementação de programas de rastreamento precoce das lesões precursoras do câncer anal, inclusive na FMTAM (PALEFSKY et al., 1998b).

O sistema imune exerce importante controle das infecções. Pacientes com deficiências neste sistema são particularmente suscetíveis ao desenvolvimento de quadros infecciosos difusos e refratários, conforme observado em transplantados renais, HIV positivos e portadores de defeitos genéticos deste sistema (DOORBAR, 2005).

2.6 O Sistema imune e caracterização das células dendríticas

O sistema imune é composto por células e moléculas que desencadeiam resposta coletiva e coordenada à introdução de substâncias estranhas no organismo, sendo mediado

pelos componentes dos sistemas inato e adaptativo. O sistema inato apresenta, como principais funções, o reconhecimento de patógenos, fagocitose, apresentação de antígenos (Ag), liberação de mediadores inflamatórios e o recrutamento celular (ABBAS; LICHTMAN, 2005a).

As células apresentadoras de antígenos (APC) são representadas por linfócitos B, células de Langerhan's(células dendríticas imaturas) (LC), células dendríticas da epiderme, macrófagos e linfócitos epiteliais disponibilizados nas camadas do epitélio, sendo seu papel parte fundamental da resposta imune, pois após capturarem os antígenos, processam-nos e expressam, em sua superfície, através do complexo principal de histocompatibilidade (*Major Histocompatibility Complex* - MHC) de classe II, e apresentam aos linfócitos auxiliares T CD_4^+ , desencadeando a resposta ao invasor. (ABBAS; LICHTMAN, 2005b).

As formas imaturas das DC são levadas pela corrente sangüínea aos órgãos periféricos como pele e mucosas, onde se instalam. As DC da pele ou células de Langerhan's (LC) possuem grande poder migratório através dos plexos subepidérmicos, nos sítios de interação entre o indivíduo e o meio, onde formam uma rede extensa unidirecional e ascendente até os órgãos linfóides secundários (RANDOLPH et al., 2005), iniciando juntamente com os linfócitos intra-epiteliais a resposta imune contra antígenos (Ags) inalados, ingeridos ou inoculados na fase inicial de infecção (ABBAS; LICHTMAN, 2005c; PACHIADAKIS et al., 2005; ABBAS; LICHTMAN, 2005d; JAMESON et al., 2002).

2.6.1 Expressão de receptores e maturação das células dendríticas

As DC antes de capturarem e fagocitarem os antígenos por macropinocitose ou endocitose, são consideradas imaturas por expressarem pouco MHC, moléculas co-

estimuladoras e apresentarem expressão elevada de CD1a e receptores de quimiocinas como os CCR1, CCR2, CCR5 e CCR6. Estes receptores associados às quimiocinas recrutam outras DC para os tecidos inflamados (ZIMMER et al., 2002).

Durante o processo migratório, a expressão de MHC I, MHC II, como o HLA-DR, moléculas co-estimuladoras, CD80 (B7-1) e CD86 (B7-2) e CD4 aumentam nas DC, enquanto diminui a ligação e o processamento de novos Ags exógenos, sendo então consideradas DC maduras, que expressam ainda CXCR4 e CCR7 que direcionam a migração até as áreas T dos tecidos linfáticos, auxiliadas pelas quimiocinas linfonodais CCL19 e CCL21 (ZIMMER et al., 2002; KAWAMURA et al., 2005).

Na zona de células T, as DC maduras apresentam os antígenos capturados e são caracterizadas pela expressão de CD83, altos níveis de MHC II, CD40, CD86 e expressão reduzida de CD1a (ZIMMER et al., 2002; KAWAMURA et al., 2005), que em resposta às citocinas e moléculas co-estimuladoras expressas ativam macrófagos, fundamentais à resposta infecciosa aguda (ABBAS, LICHTMAN, 2005).

As interações adesivas entre DC e linfócitos T são relacionadas à expressão do *leucocyte function associated molecule-1* (LFA-1), o maior ligante da ICAM-3 aos linfócitos T (SOILLEUX, 2003). Após a sinalização, entre DC-Linfócitos T, os linfócitos T sofrem expansão clonal e então migram para a pele para participarem da resposta inflamatória.

As DC são um grupo de APC bastante heterogêneas. O sangue, a pele e os tecidos linfóides apresentam várias subpopulações de DC que diferem quanto à eficácia de ativação dos linfócitos T *naive* e permissibilidade a infecções (TURVILLE et al., 2001). Quanto à origem, as DC apresentam precursores mielóides e linfóides; que, conforme a exposição e expressão de receptores de citocinas, irão se diferenciar em DC mielóides, LC e DC plasmocitóides, classificadas de acordo com seu fenótipo e morfologia (Figura 3) (ARDAVÍN

et al., 2001; WU; KEWALRAMANI, 2006).

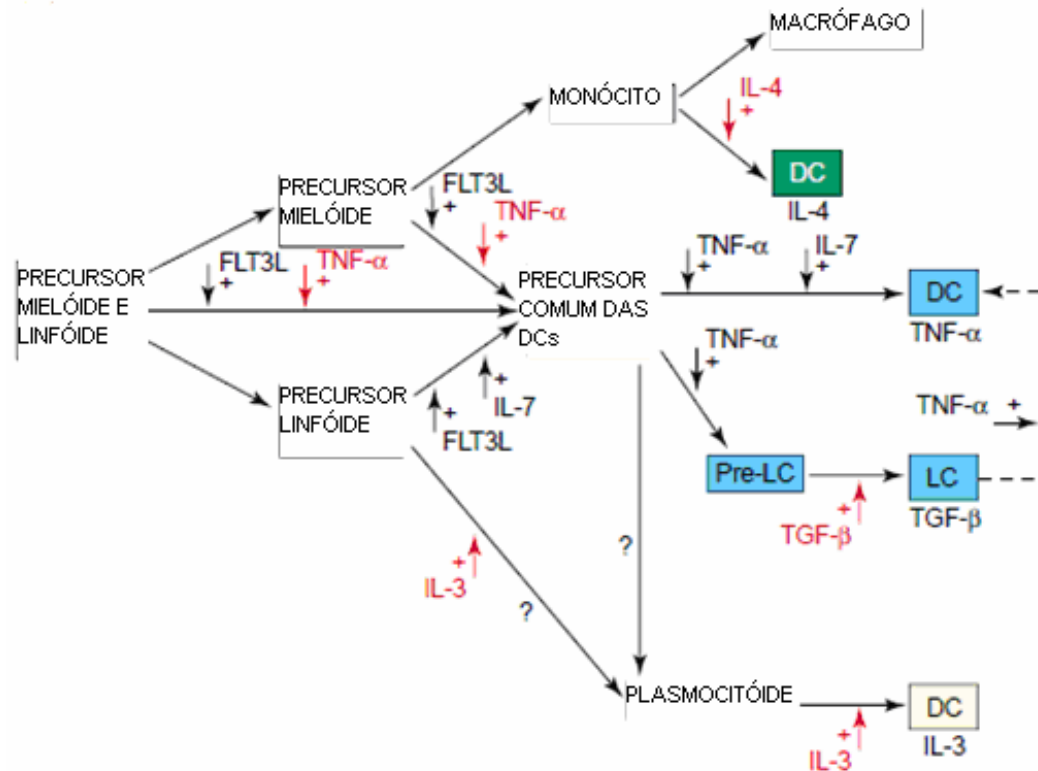


Figura 3- Modelo de diferenciação das DC.

Via comum de diferenciação das DC. Após as setas estão representados os produtos finais de cada via de diferenciação. As principais citocinas envolvidas estão indicadas.

Legenda: FLT3: *fms-like tyrosine kinase 3 ligant*; IL: interleucina; TGF-β: fator β de crescimento e transformação; TNF-α: fator α de necrose tumoral.

Fonte: Ardavín et al. (2001).

No sangue periférico, são encontradas as DC mielóides e plasmocitóides. As DC mielóides são APC clássicas, pois apresentam os produtos antigênicos degradados aos linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺, secretam citocinas pró-inflamatórias como a IL-12, essenciais ao desenvolvimento da resposta imune efetiva, além de interferon I, quando infectadas por vírus, mas em menor quantidade que as DC plasmocitóides consideradas produtoras naturais de interferon (PACHIADAKIS et al., 2005; WU; KEWALRAMANI, 2006).

As DC plasmocitóides desencadeiam resposta adaptativa anti-viral caracterizada pela

produção de vários tipos de interferon (WU; KEWALRAMANI, 2006) e têm, segundo Pachiadakis et al., (2005), uma capacidade 10 a 50 vezes menor em expandir células T CD4⁺ e T CD8⁺.

Ambas DC mielóides e plasmocitóides, secretam IL-10 e IL-12 e a relação entre essas parece definir a resposta imune como predominantemente do tipo 1 ou do tipo 2, e o tipo de resposta parece relacionada à quantidade de antígenos e ligantes dos receptores do tipo *toll* nos patógenos (PACHIADAKIS et al., 2005).

DC mielóides, DC plasmocitóides, DC da derme são suscetíveis à infecção pelo HIV-1, pois expressam, mesmo que em pequenas quantidades, os receptores CD4 e os co-receptores necessários à ligação (TURVILLE et al, 2002). Smed-Sorensen et al. (2005) observaram maior suscetibilidade das DC mielóide para as infecções pelo vírus tipo 1 do HIV que utiliza o receptor CCR5 (R5), provavelmente decorrente da maior expressão de CCR5 em relação a CXCR4 nessas células.

No epitélio, as seguintes subpopulações de DC foram descritas, *in vitro* (TURVILLE et al., 2003):

- LC intra-epiteliais langerina⁺ CD1a⁺
- DC da derme, submucosas ou subepiteliais CD1a⁻ CD14⁺ DC-SIGN⁺
- DC da derme, submucosas ou subepiteliais CD1a⁺ CD14⁻ DC-SIGN⁻
- MD-DC derivadas de monócitos: CD1a⁺ CD14⁺ DC-SIGN⁺

2.6.2 Características fenotípicas e funcionais das LC

Segundo Geijtenbeek et. al. (2000), as LC, como típicas DC imaturas do epitélio, fenotipicamente apresentam altos índices de expressão de CD1a e são capazes de apresentar

Ags microbianos lipídicos e possivelmente glicolipídicos para as células T (ZIMMER et al., 2002), além da expressão positiva de CD4 e CCR5, e negativa de DC-SIGN (DC-specific, ICAM-3 grabbing, nonintegrin).

Várias características das LC as colocam como as mais prováveis células-alvo do HIV, como a localização intra-epitelial, a expressão constitutiva de CD4, suscetibilidade seletiva ao vírus R5 do HIV-1, capacidade de migrar para os linfonodos e habilidade de transmitir o HIV aos linfócitos T CD4⁺ (KAWUAMURA et al., 2005), sendo apontados como os sítios mais importantes de multiplicação do HIV, juntamente com as células T (KAWAMURA et al., 2003).

A expressão exclusiva de langerina pelas LC, uma lecitina tipo-c, recentemente descrita, que induz a formação dos grânulos de Bierbeck, sugere capacidade única de capturar Ags particulares como a manose, *N-acetyl-glucosamine* e fucose, e possui ação comparável aos receptores de lecitina do tipo-c (CLR) (KAWAMURA et al., 2005).

Foi demonstrada a ligação da langerina ao HIV pela gp120, sugerindo sua participação na transmissão sexual do vírus (TURVILLE et al., 2002), porém Schwartz (2007), comprovou que *virions* do HIV capturados pela langerina são internalizados nos grânulos de Bierbeck e degradados, estando a langerina envolvida no processamento do antígeno, criando uma barreira natural ao HIV-1, mantendo as LC refratárias a ele e mediando a eliminação viral.

Buscando definir o papel das LC na exposição sexual ao vírus, Hu et al. (2000), fizeram inoculação de vírus da imunodeficiência dos símios (SIV) no epitélio vaginal de símios e descobriram que mais de 90 % das células infectadas eram LC intra-epiteliais, e que tardiamente foram encontradas nos linfonodos.

Quanto à forma de transmissão do vírus, foi levantada a hipótese de competição, pela ligação do gp120, entre o CD4 e a langerina, existindo a possibilidade da langerina mediar a infecção das LC, via *trans* (dependente do CLR) ou *cis* (infecção via *trans* mediando a

infecção *de novo*), facilitando a transferência do vírus às células T (KAWAMURA et al., 2005) Figura 04.

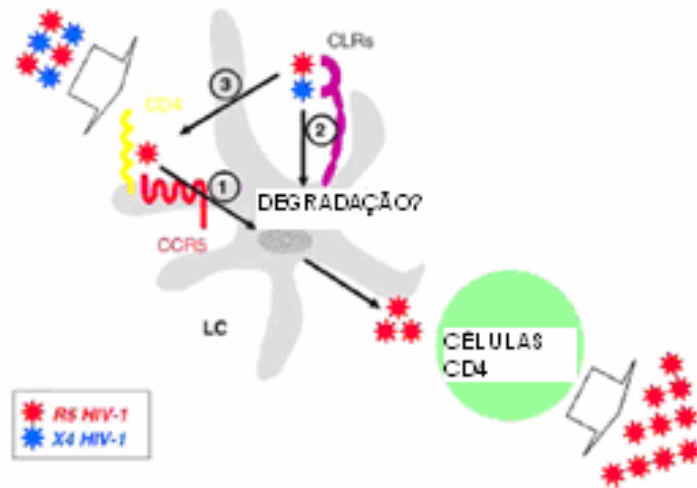


Figura 4 - Possíveis vias de interação das células de Langerhan's da mucosa.

(1) via *de novo* ou clássica; (2) via *trans* ou dependente do CLR; (3) via *cis* ou *de novo* infecção mediada inicialmente pela via *trans*. As vias *de novo* e *cis* estão relacionadas ao vírus R5 do HIV-1 e a via *trans* ao vírus X4 HIV-1. Legenda: CLR: Receptor de lecitina tipo-c; LC: células de Langerhan's; R5 HIV-1: vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 que liga-se ao receptor CCR5; X4 HIV-1: vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 que liga-se ao receptor CXCR4; CD4: glicoproteína expressa por linfócitos T *helper*, células T regulatórias e monócitos; CCR5: receptor curto de quimiocina 5.

Fonte: Kawamura et al. (2005).

Kawamura et al. (2005), apontam a infecção *de novo* mediada pelo CD4/CCR5 das LC como a principal via de transmissão sexual do vírus, tornando plausível a observação de que indivíduos com deleção homozigótica de CCR5 sejam protegidos da aquisição sexual do vírus R5 do HIV-1, conforme descrito por Huang et al. (1996); Liu et al. (1996). Desde 2003, Kawamura e colaboradores descreveram a variação dos níveis de infecção das LC conforme a ocorrência de polimorfismo na CCR5 e suscetibilidade genética dessas células ao HIV, em que indivíduos que possuem o diplotipo Awt/Awt estão sujeitos a maior carga de infecção pelo HIV (KAWAMURA et al., 2004).

Um estudo *ex vivo* encontrou baixa taxa de infecção das LC, 2,67 %, a despeito da alta concentração de vírus R5 do HIV-1, sugerindo a degradação do vírus pela langerina e a

relativamente baixa incidência de transmissão sexual do vírus, que apresenta uma taxa de transmissibilidade de 0.0001-0.0040/ por ato sexual *in vivo*, (KAWAMURA et al., 2005).

Witte et al. (2007), usando células *Raji* transfectadas expostas ao HIV-1, demonstraram que a infecção das células T é significativamente menor na presença de LC langerina⁺, porém ressalva que, sob altas concentrações do HIV-1, ocorre saturação da langerina com consequente infecção das LC, e que a infecção ocorreria mais facilmente nas LC maduras, por diminuição da expressão de langerina e apenas com o vírus R5 do HIV-1, sugerindo então, que a infecção direta das LC seja necessária à sua transmissão (WITTE et al., 2007).

Segundo as conclusões de Witte et al. (2007), os linfócitos T CD4⁺ permanecem como fonte de replicação e disseminação do HIV e a presença de infecção severa, ulcerações genitais e co-infecção por DST poderiam explicar as diferentes suscetibilidade ao HIV-1.

O CCR5 vem sendo apontado como co-fator crítico na transmissão sexual do HIV, devido a maioria das infecções primárias isoladas serem por vírus R5 do HIV-1, pelo fato das LC expressarem CCR5 e não CXCR4, e serem infectadas, *ex vivo*, por vírus R5 do HIV-1 e não pelo vírus tipo X4 do HIV-1 (R4), que utiliza o receptor CXCR4 (KAWAMURA et al., 2005).

A quimiocina sintética PSC-RANTES (regulated upon activation, normal T-cell expressed, and secreted), foi capaz de bloquear a infecção primária das LC imaturas pelo vírus tipo 5 do HIV-1 sem promover a infecção pelo HIV X4. Porém nas MD DC a taxa de infecção viral pelo vírus X4 quadruplicou, sugerindo a existência de competitividade natural entre os vírus R5 e X4, gerando preocupação quanto ao uso do PSC-RANTES como microbicida (KAWAMURA et al., 2004; LEDERMAN et al, 2004).

2.6.3 Células dendríticas não-LC, co-receptores e a infecção pelo HIV

Há mais de uma década, é sabido que as DC ligadas ao HIV-1 facilitam a infecção viral de co-culturas de células T, e estudos recentes têm se concentrado em documentar a

importância destas células na transmissão, via mucosas, do vírus por meio da descrição dos mecanismos moleculares da transmissão (WU; KEWALRAMANI, 2006).

Embora as DC sejam permissivas à infecção por uma variedade filogenética de vírus, sua capacidade de suportar a replicação viral é relativamente pequena, contribuindo pouco para a produção de novos *virions* (PACHIADAKIS et al., 2005).

As DC estão implicadas em diversas formas de transmissão do HIV. A interação inicialmente descrita foi a *de novo*, onde a proteína gp120 do envelope viral liga-se primeiramente ao CD4 e, secundariamente, aos receptores de quimiocina, CCR5 e CXCR4, causando uma alteração na conformação do gp41. A seguir, ocorre a exposição da região do peptídeo de fusão que se ligará à membrana celular do hospedeiro (ABBAS; LICHTMAN, 2005a). Seguem-se as etapas intra-nucleares de transcrição do RNA viral e a formação da estrutura básica do HIV, e então a gp120 e o gp41 são expressos na membrana celular do hospedeiro, levando à brotação do *virion* maduro e à sua liberação para infectar outra célula. A infecção de uma nova célula pode ocorrer também pela forma direta quando o broto do *virion* ainda não se formou, e uma célula que expresse o receptor e co-receptores requeridos liga-se à célula do hospedeiro infectada, permitindo a transferência do genoma do HIV (ABBAS; LICHTMAN, 2005a).

A expressão do fator CD4, até recentemente, era apontada como determinante para ligação das células ao HIV associado a co-fatores, sendo os de importância para a exposição em superfícies mucosas o CCR5, CXCR4, DC-SIGN e, recentemente, langerina e DC-SIGN related (DC-SIGNR) (TURVILLE et al, 2003).

A especificidade do vírus para estes co-receptores é baseada no gp120, em que mutações nesta área podem alterar o tropismo celular, como ocorre com a CCR5 usada pelo vírus na fase inicial da infecção. Nos estágios tardios a CCR5 é substituída pelo CXCR4 revelando alteração do tropismo viral que, na fase inicial da infecção é macrófago-trópico e

depois se direciona às células T (ABBAS; LICCHTMAN, 2005a).

Essa diversidade de co-receptores cria duas vias distintas de infecção: a via infecciosa clássica ou *de novo*, mediada por CD4 e CCR5 (McDONALD et al., 2003) e a via independente do CD4 (BLAUVELT et al.; 2005; GEIJTENBEEK et al., 2000; TURVILLE et al., 2001), a *trans*, na qual a transmissão do HIV é mediada por CLR com formação de exossomos (WILLEY et al., 2006) em DC consideradas não-infectadas (TURVILLE et al., 2002; HU et al., 2004). Alternativamente, é descrita a via *cis*, pela interação do CLR com o CD4 e um receptor de quimiocina em células permissivas, como o macrófago, promovendo uma forma alternativa para a *de novo* infecção (KAWAMURA et al., 2003).

Embora *cis* e *trans* não sejam vias excludentes, a diversidade de ligações do CLR contribui para a complexidade biológica, traduzida pela expressão destes CLRs nas subpopulações de DC, como langerina nas LC, e do receptor de manose, DC-SIGN nas DC dérmicas (KAWAMURA et al., 2005).

Buscando avaliar os tipos de interações entre o HIV e as DC na mucosa, Turville et al. (2002), utilizando anticorpos (Ac) anti-CD4 e anti-manose, demonstraram o pequeno papel desempenhado pelo CD4 e que nas mucosas as interações são dependentes, principalmente, do receptor de lecitina c do tipo manose (MCLR). No mesmo estudo, observou-se que LC imaturas ligam-se seis vezes mais ao gp120 que as DC dérmicas, e que o Ac anti-manose impede a ligação do vírus tipo-1 e 2 com o DC-SIGN, DC-SIGNR e langerina, mas não com o CD4, e permanecendo inalterada, a ligação do vírus tipo 2 ao CXCR4.

O caminho a ser seguido pela infecção parece depender do tipo celular encontrado inicialmente pelo HIV ao invadir o organismo (KAWAMURA et al, 2005), e segundo Hu et al. (2000) toda a subpopulação de DC são capazes de transportar o HIV até o linfonodo.

DC, macrófagos e células T expressam também CD4, CXCR4 e/ou CCR5, os quais são suscetíveis à infecção pelo HIV, podendo, na fase inicial da infecção, serem potenciais

células-alvo para a disseminação do vírus (KAWAMURA et al, 2005).

A possibilidade de proteção do HIV no interior de exossomos de DC, gerando um estado infeccioso prolongado, foi levantada por Geijtenbeek et al., 2000 quando relataram a capacidade do HIV em subverter a função habitual das DC DC-SIGN⁺, ocasionando a transmissão viral nas células T.

Turville et al. (2004) sugerem a internalização do vírus, via DC-SIGN, num compartimento não-endolisossomal, para posterior degradação, e Segura et al. (2005), demonstraram, *in vitro*, que apenas exossomos produzidos por DC maduras são capazes de iniciar a resposta imune em células T virgens. A transferência direta de Ags, ainda é controversa, mas a transferência de um exossomo a outro já foi comprovada, podendo inclusive ter impacto no controle da infecção, considerando-se a produção artificial de exossomas, visando o estímulo da resposta imune contra agentes infecciosos e tumores (SEGURA et al., 2005).

2.6.3.1 O papel da DC-SIGN nas infecções via DC

A ICAM-3 (intracellular *adhesion molecule*) é uma molécula de adesão intercelular que adere a não-integrinas, inicialmente designadas como específicas das DC imaturas, e denominadas DC-SIGN (*DC-specific, ICAM-3 grabbing, nonintegrin*). Descrita por Curtis et al. (1992) na placenta como um MCLR capaz de ligar-se ao gp120. As células DC-SIGN⁺ são dispostas na derme, placenta, mucosas, tecidos linfóides e de forma difusa nas fibras de tecido conjuntivo fibroso, mas não em LC (SOILLEUX, 2003). Com o uso de Ac específicos, Geijtenbeek et al. (2000) demonstraram que as células que expressam DC-SIGN, na mucosa do reto e vagina, são distintas das células T, macrófagos, células B ou monócitos,

mas compatíveis com as DC, e que essas DC DC-SIGN⁺, em sua grande maioria, expressam CD4 mas não CCR5.

Turville et al. (2001), demonstraram que CD4 e MCLRs mediam a ligação do gp120 a DC em tecidos periféricos e que o tipo de MCLR varia conforme o fenótipo e maturação das DC, no epitélio, na submucosa ou na derme; salientando que este amplo espectro de receptores deve ser considerado quando do desenvolvimento de anti-retrovirais capazes de bloquearem a aquisição do vírus.

Depois de constatada a capacidade de ligação das DC-SIGN ao CCR5 e ao CXCR4, diferentemente da langerina que são CCR5⁺ e CXCR4⁻, concluiu-se que a seleção do vírus R5 ocorrente durante a transmissão sexual do HIV, não seja ocasionada pelo DC-SIGN (KAWAMURA et al., 2005). Porém, a habilidade das DC em ligar-se ao HIV-1 e de transmiti-lo às células T CD4⁺ parece relacionada ao DC-SIGN (JAMESON et al., 2002), pela alta afinidade de ligação com as proteínas do envelope viral do HIV-1 e HIV-2, podendo transmiti-lo às células-alvo que expressam CD4 e os co-receptores virais. (SOILLEUX, 2003).

Hu et al. (1999; 2000; 2004) descreveram as DC migratórias como responsáveis por 90 % da disseminação do HIV devido à rápida penetração dos vírus na mucosa vaginal e transmissão às células T CD4⁺. In vitro, as DC derivadas de monócitos (MD-DC) maturam por ação de lipopolissacarídeos, IFN γ , TNF e CD40-L que determinam uma resposta TH1 nas células T CD4⁺ com alta transmissibilidade (WU; KEWALRAMANI, 2006). Porém, *in vivo*, a interação DC- T CD4⁺ ocorre apenas nas DC DC-SIGN⁺ que expressam CD4 (TURVILLE et al, 2001, 2003). Apesar dos estudos atuais provarem a interação direta das DC DC-SIGN⁺ ao HIV, sem a presença do CD4, via exossomos, quando da transmissão às células T, a expressão do CD4 é mandatória (KAWAMURA et al., 2005).

2.6.4 Disposições das DC no epitélio vaginal e retal

A eficiência da transmissão do HIV-1, via DC parece associada aos níveis de DC-SIGN expressos na mucosa, na qual os vírus devem atravessar a camada epitelial para acessar as DC DC-SIGN⁺ na região subepitelial da lâmina própria, o que pode ser facilitado por traumatismos, ferimentos e tratamentos com progesterona (JAMESON et al., 2002), além da influência do ciclo menstrual, ectopia cervical, circuncisão e predisposição genética (KAWAMURA et al., 2005).

Na mucosa vaginal, as células DC-SIGN⁺ não são detectadas dentro do epitélio escamoso. Já no reto, as células DC-SIGN⁺ que co-expressam o receptor CD4 do HIV-1 formam uma banda estreita logo abaixo do lúmen epitelial, separadas apenas pelo tênue epitélio colunar simples, sendo portanto facilitado o acesso do vírus a estas células (JAMESON et al., 2002). Os artigos são uníssonos em afirmar o maior risco de transmissão do HIV-1 através do intercuro retal (JAMESON et al., 2002; VOELER, 1991).

O epitélio da vagina, da ectocérvice, da glândula e da parte interna do prepúcio são do tipo estratificado escamoso entremeados com LC dispostas sobre a lâmina própria. Em contraste, a região endocervical e o reto são constituídos por epitélio colunar simples sem LC (KAWAMURA et al., 2005), o que poderia permitir a transcitose viral, sendo portanto a transmissão pouco provável em heterossexuais, pois a ectocérvice e epitélio vaginal é que geralmente estão expostos, sendo bastante provável que o epitélio estratificado intacto da mucosa genital, cause uma barreira protetora eficaz à transmissão viral, na maioria dos casos (KAWAMURA et al., 2005).

Células DC-SIGN⁺ têm sido demonstradas interagindo com a ICAM-I expresso em células T *naive*, mediando a ligação da DC com a célula T. Questionou-se então a possibilidade de atuação da DC-SIGN⁺, além da langerina, como porteiros, sendo capazes de capturar, processar e apresentar antígenos peptídicos ou o vírus intacto às células T CD4⁺

(JAMESON et al., 2002).

Liu et al. (2005) descreveram na mucosa retal e vaginal de humanos a presença de DC-SIGNR, um homólogo próximo do DC-SIGN, distribuído mais abundante na forma solúvel, com possível impacto na transmissão sexual.

2.6.5 Variações da frequência das células dendríticas e o risco de câncer

As DC parecem variar conforme a idade. De acordo com Uchimura et al. (2004) ocorre uma diminuição dessas células na mucosa cervical a partir dos 30 anos. Os autores determinaram a média das DC em mulheres sem patologia cervical e observaram diminuição significativa nas mulheres com menarca após os 13 anos e nas com iniciação sexual antes dos 17 anos.

A importância da alteração da frequência das DC/LC no epitélio é controverso (SOBHANI et al., 2002; NADAL et al., 2006a), com estudos demonstrando diminuição em situações de risco, e noutros o aumento por diminuição da migração. A diminuição das DC tem sido relacionada a eventos como o agravamento da NIA, neoplasias escamosas, terapia imunossupressora e presença de outras neoplasias; nos quais o epitélio glandular metaplásico parece inibir a migração de DC para os tecidos, tornando-os desprotegidos (UCHIMURA et al., 2004).

Sobhani et al. (2004) encontraram uma média de 15 a 19 cél/mm^2 DC CD1a⁺ na camada basal anal da população geral, 24 a 27 cél/mm^2 em pacientes com condiloma anal e de 13 a 16 cél/mm^2 podendo chegar à zero, nos pacientes com NIA III ou câncer anal. O acompanhamento dos pacientes mostrou a diminuição das DC após a excisão de condilomas anais, com diferenças entre os grupos com e sem NIA severa e o câncer.

De acordo com Sobhani et al. (2002) na infecção pelo HPV em pacientes HIV negativos com condiloma anal, as DC aumentam nas camadas basais do epitélio escamoso

invadido e diminuem nos pacientes HIV positivos, não havendo relação com sexo, idade, presença de infecção anal múltipla ou comportamento sexual, estando, provavelmente, relacionada à presença do vírus. O achado ajuda a explicar a elevada recidiva dos condilomas nos pacientes HIV positivos. A presença de infecção pelo HIV, numa análise multivariada, foi o único fator de risco para a diminuição das células dendríticas (SOBHANI et al., 2004).

Tay et al. (1987) avaliando subpopulações de DC em pacientes com NIA, constataram a diminuição de seus níveis, principalmente das DC S 100 positivas, causando um enfraquecimento da resposta imune celular contra o HPV e a NIA, facilitando o desenvolvimento do câncer. Já Nadal et al. (2006a), estudando peças cirúrgicas de pacientes HIV positivos com câncer anal, constatou uma frequência significativamente menor dessas células nos pacientes HIV negativos, porém sem associação com o prognóstico, no qual segundo os autores, a ação de fatores tumorais parecem impedir a ativação e migração das DC e a conseqüente infiltração e controle do tumor pelas células T.

2.6.6 A secreção de Citocinas em Pacientes Infectados pelo HIV

Nos linfócitos T $CD4^+$ são classificado duas subpopulações celulares denominadas TH1 e TH2, que desencadeiam resposta imune antagônicas. A resposta TH1 está relacionada à secreção de IL-2, TNF- α , TNF- β , IL-3 e IFN- γ , ativação de macrófagos, fagocitose e de mecanismos citotóxicos, levando à destruição extensa das zonas infectadas. São relacionadas à defesa contra protozoários, bactérias intracelulares e vírus e inibem a resposta TH2 (MACHADO et al., 2007).

A resposta TH2 é mais efetiva contra helmintos e bactérias extracelulares, e está relacionada à secreção de, IL-5, IL-13 e IL-3, e IL-4 que modulam negativamente a resposta TH1. Caracteriza-se pelo estímulo à produção de Ac pelos linfócitos B (MACHADO et al.,

2007). A IL-10 é atualmente definida como uma IL-regulatória.

Na fase inicial da infecção viral, o controle é feito pelos IFN α , β , macrófagos e células NK. O IFN- γ também ativam macrófagos e células natural killer (NK), que produzem granzima e perforina, causando a lise osmótica das células infectadas. Além disso, macrófagos e APC, produzem IL-12 que estimulam as células NK a exercerem sua citotoxicidade e secretarem mais IFN- γ o que aumenta o poder microbida dos macrófagos (MACHADO et al., 2007).

Durante a infecção pelo HIV, os linfócitos T CD4⁺ por expressarem Ag virais nas suas membranas, tornam-se alvo de destruição pela citotoxicidade dos linfócitos T CD8⁺ e também aumentam a apoptose, levando à destruição em massa dessa subpopulação de linfócitos. A supressão imunológica está associada à diminuição de IL-2, IFN- γ e TNF α , caracterizando o enfraquecimento da resposta TH1, facilitando as infecções por organismos intracelulares comuns na aids: *M. tuberculosis*, *P. carinii* (*p. ginoveci*), *CMV*, *criptosporidium* (MACHADO et al., 2007).

A análise de proteínas regulatórias e acessórias do HIV e de citocinas em pacientes infectados, revelaram a complexidade da resposta imune na qual a expressão de *Nef* (negative factor) e *Tat* (transcriptional transactivator) por MD-DC imaturas estimularam a produção de quimiocinas, citocinas e a ativação de células T (MESSNER et al., 2002). Shinya et al. (2004) descreveram a *Nef* como responsável pela diminuição da expressão de CD1a e MHC I nas MD-DC, prejudicando a apresentação de antígenos, objetivando a evasão do sistema imune. Outros estudos descreveram o aumento da expressão de DC-SIGN e formação de aglomerados de DC e células T, pelas *Nef*, promovendo a trans-infecção (SOL-FOULOU et al., 2002).

A expressão de *Tat* por DC imaturas, segundo Izmailova et al., (2003), poderia induzir a expressão do IFN para o aumento da produção de células T e atração de macrófagos,

facilitando a disseminação da infecção, sem induzir à maturação celular. Discordante destes estudos, Fanales-Belasio et al. (2002) e Quaranta et al. (2002) descreveram que essas proteínas não alteram a eficiente maturação das DC.

A avaliação das citocinas locais tem despertado o interesse dos pesquisadores, a infecção das DC pelo HIV prejudicam sua capacidade de estimular células T devido à inibição da secreção de citocinas, principalmente a IL-12, associada à perda da capacidade de maturação por deficiência de expressão de moléculas co-estimuladoras e do MHC, retardando a resposta imune (PACHIADAKIS et al., 2005, LORÉ et al., 2002).

Segundo Crowley-Nowick et al. (2000), a IL-10, uma citocina inicialmente denominada como TH2, foi encontrada aumentada na mucosa de pacientes HIV positivos com infecção pelo HPV. Já a regressão da infecção nestes pacientes foi relacionada ao aumento de citocinas do tipo TH1 (SCOTT et al., 2001).

Nos pacientes com NIA de alto grau, há diminuição da resposta TH1 caracterizada pela diminuição de IL-2, IFN- γ e TNF α (WU; KEWALRAMANI, 2006).

A imunomodulação das DC pela infecção do HIV, principalmente quanto à apresentação de antígenos, parece propiciar a evasão do sistema imune. Segundo Macatonia et al. (1990), DC séricas de pacientes infectados com o HIV-1 são menos eficientes em estimular células T, e DC DC-SIGN⁺ apresentam expressão diminuída das moléculas co-estimuladoras CD80 e CD86 (LORE et al., 2002).

Por fim, estudos de Granelli-Piperno et al (2004, 2006) descreveram as MD-DC e DC mielóides com maturação falha, porém mantendo o estímulo às células T para produzirem citocinas regulatórias como a IL-10, promovendo resposta imunossupressiva (TH2).

Contrário a estas afirmações Sapp et al. (1999), descreveram a eficácia no estímulo à resposta imune, via linfócitos T CD8⁺, e Smed-Sorensen et al. (2005) não observaram diminuição na produção de citocinas estimuladas por DC plasmocitóides e mielóides infectadas com o HIV-1.

Segundo Granelli-piperno et al. (2005), a eficiência da transmissão do HIV pode ser aumentada com a maturação das DC nos tecidos linfóides, e parece ser potencializada com o aumento da expressão da ICAM I, fortificando a interação DC-célula T que expressam LFA-1.

Segundo Turville et al. (2004) DC maduras apresentam grande número de *virions* intactos em compartimentos perinucleares, ao contrário das imaturas, porém com capacidade de replicação viral 10-100 vezes menor, talvez pela diminuição da expressão de DC-SIGN, ficando a ligação ao gp120 mais dependente de CD4, inclusive com o aumento de sua expressão (TURVILLE et al., 2002).

Devido à importante depleção da população dos linfócitos T CD4⁺ no trato gastrointestinal, observada nas infecções agudas e crônicas pelo HIV, torna-se necessário a caracterização das subpopulações de DC intestinais, sua suscetibilidade ao HIV e habilidade na transmissão do vírus aos linfócitos T CD4⁺ gastrointestinais (NOBILE et al., 2005).

Há duas décadas, o câncer anal tem sido pesquisado com ênfase, impulsionado pelo alarmante aumento de sua prevalência nos pacientes imunossuprimidos e pelos novos conhecimentos advindos sobre a imunidade relacionada aos vírus e aos tumores, trazendo a esperança de cura pela modulação, através do controle da migração das DC, do bloqueio dos co-fatores e do desenvolvimento de vacinas terapêuticas. Impulsionado por estes novos dados, o presente estudo buscou analisar morfometricamente a relação entre as células dendríticas da mucosa anal em pacientes HIV positivos com a lesão escamosa intra-epitelial anal e o câncer.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Analisar morfometricamente a relação das células dendríticas (DC) com o grau de lesão escamosa intra-epitelial e o câncer, na mucosa anal de pacientes HIV positivos atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas- FMTAM.

3.2 Específicos

- 3.2.1 Caracterizar a distribuição da população das DC residentes (DC CD1a⁺ e DC DC-SIGN⁺) no epitélio anorretal de pacientes HIV positivos e HIV negativos;
- 3.2.2 Avaliar a relação da distribuição das DC no epitélio anorretal de pacientes em uso de HAART, com os níveis de células CD₄⁺ e carga viral sérica periférica;
- 3.2.3 Avaliar os fatores sócio comportamentais com potenciais de risco para o desenvolvimento de neoplasia intra-epitelial escamosa entre os grupos.

4 MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Modelo de Estudo

Trata-se de um estudo observacional analítico, do tipo caso-controle não-pareado, que buscou avaliar a relação das células dendríticas com a lesão escamosa intra-epitelial e o câncer na mucosa anal de pacientes HIV positivos atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMTAM).

4.2 Universo de estudo

4.2.1 População de Referência

O estudo teve como alvo os pacientes encaminhados ao ambulatório de coloproctologia da Fundação de Medicina Tropical do Estado do Amazonas (FMTAM), provenientes do ambulatório de DST/aids desta instituição e os da rede pública de assistência à saúde da cidade de Manaus-AM

A FMTAM é uma instituição pública de referência em doenças infecto-contagiosas no estado do Amazonas, que presta assistência também aos estados vizinhos de Roraima e do Pará, sendo responsável pela implementação das medidas de apoio e tratamento dos pacientes com HIV/aids emanadas do Ministério da Saúde (BRASIL, 2007c).

4.2.1.1 População de Estudo

Foram estudados pacientes HIV positivos e negativos devidamente encaminhados ao ambulatório de coloproctologia da FMTAM.

Foram estudados dois grupos: o grupo caso composto por pacientes HIV positivos de ambos os sexos que fazem acompanhamento especializado na FMTAM e outro grupo denominado controle, constituído por pacientes HIV negativos encaminhados ao serviço por apresentarem queixa proctológica. Para participarem do estudo, os pacientes receberam informações sobre os objetivos do projeto, benefícios e riscos da pesquisa. Os que concordaram, formalizaram o aceite assinando o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

4.2.2 Amostra

Foram coletadas amostras histológicas da mucosa anal ou da pele perianal de 125 pacientes, destes 70 HIV positivos e 55 HIV negativos.

4.2.2.1 Cálculo da amostra

Foi tomado como base o trabalho disponibilizado por Sobhani *et al*, (2002), que analisaram as células dendríticas (DC) do canal anal e o risco de câncer anal induzido pelo HIV em Paris, França, já que não se dispunha de dados nacionais. Calculou-se o tamanho amostral através do programa EPIINFO (CDC, 2005) (Anexo 1).

- **Estudo caso-controle:**

proporção de casos para controle: 1,0;

OR detectado: 4,50;

proporção (%) de controles expostos: 16,20%;

significância: 0,05;

poder do teste: 90%;

tamanho da amostra: 54 casos + 54 controles.

4.3 Análise estatística

Para avaliar a associação entre as variáveis categóricas e o resultado do HIV utilizou-se o odds ratio (OR) e a estatística de teste qui-quadrado de *Pearson*, que também foi utilizado nos demais cruzamentos das variáveis categóricas. Quando infringida as regras do teste de *Pearson* utilizou-se os teste exato de *Fisher* para tabelas 2x2. Na comparação de médias utilizou-se o teste análise de variância (ANOVA) ou teste *t de Student* quando os dados encontravam-se normalmente distribuídos, e quando não aceita a hipótese de normalidade foi utilizado o teste de *Kruskal-Wallis* ou *Mann-Whitney* dependendo do número de comparações (VIEIRA, 2004; BERQUO, 1980).

O software utilizado na análise foi o programa Epi-Info 3.3.2 for Windows desenvolvido e distribuído pelo CDC e o nível de significância utilizado nos testes foi de 5%.

4.3.1 Critérios de elegibilidade

4.3.1.1 Critérios de inclusão

- **Grupo CASO:**
Pacientes HIV positivos de ambos os sexos;
Idade igual ou superior a 18 anos completos.
- **Grupo CONTROLE:**
 - a) Pacientes de ambos os sexos, sem sinais clínicos de infecção ou síndrome consuptiva ou portadores de sorologia positiva para o HIV
 - b) Idade igual ou superior a 18 anos completos.

4.3.1.2 Critérios de exclusão

Menores de 18 anos;
Uso de ácido acetil salicílico regular nos últimos dez dias;

Plaquetas ($< 65000 \text{ céls} \times 10^6$) para os pacientes com aids.

incapazes mentalmente;

indígenas;

grávidas;

pacientes que preencherem os critérios de inclusão, mas que por quaisquer motivos não cumpriram todas as etapas do estudo, não quiseram participar do projeto, ou discordaram em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A).

4.4 Procedimentos

4.4.1 Fluxograma de execução

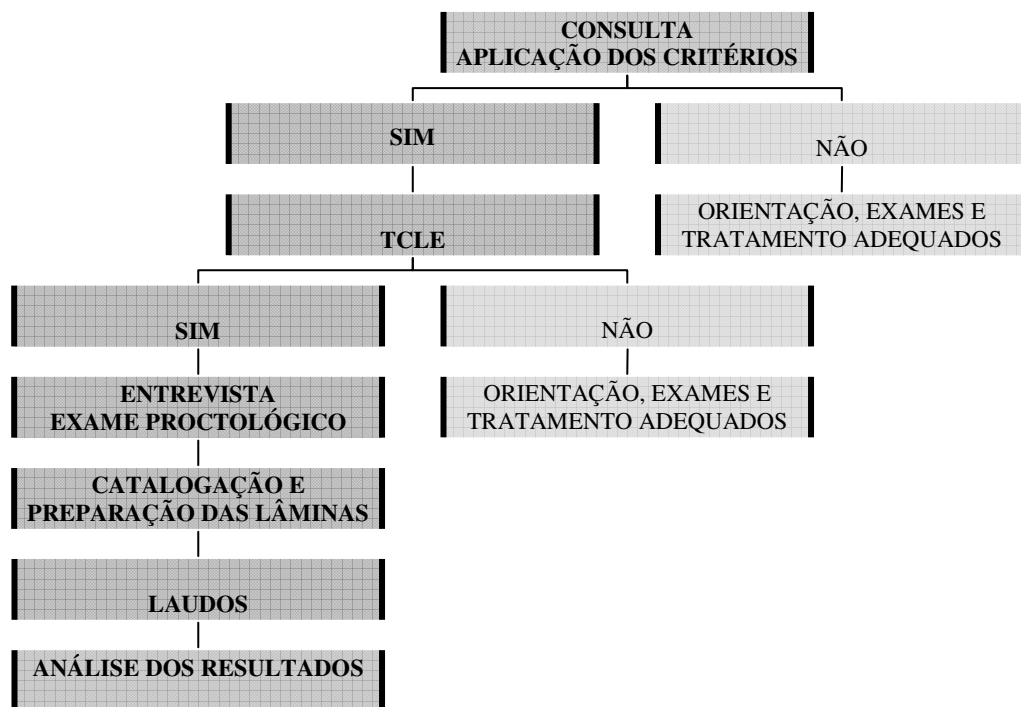


Figura 5 - Fluxograma de execução dos procedimentos

4.4.2 Coleta

A coleta do material histológico anal foi realizada por médico especialista da equipe científica em todos os pacientes.

A inclusão dos pacientes na pesquisa foi feita de forma contínua obedecendo aos critérios de elegibilidade.

4.4.3 Exame Proctológico

Os pacientes foram examinados na posição de SIMs modificada ou genupeitoral e submetidos à inspeção desarmada e a palpação da região anal, perianal e inguinal. As alterações observadas foram anotadas no prontuário individual.

4.4.3.1 Anuscopia com Magnificação de Imagens (AMI)

Todos os pacientes casos e controles foram submetidos à AMI. O procedimento foi iniciado com o toque retal com dedo enluvado e com pequena quantidade de geléia de lidocaína a 2% para lubrificação do canal anal seguido da introdução do anoscópio descartável, plástico e transparente.

Foi realizada a inspeção mucosa utilizando-se um colposcópio de aumento de 16 a 40 vezes, e em seguida introduzido uma gaze embebida em ácido acético a 3%, através do anoscópio, visando à coagulação temporária das proteínas dos processos metabólicos acelerados tornando o epitélio brancacento. A gaze permaneceu em contato com a mucosa do canal anal, retal e pele da região perianal por 2 min, sendo então retirada sob manobra de Valsalva (KLENCKE; PALEFSKY, 2003).

O anoscópio foi reintroduzido para a realização do exame do canal anal e reto sob magnificação de imagem. Os achados à AMI foram classificados em positivos ou negativos para lesões brancacentas e localizados anatomicamente quanto à altura a partir do orifício anal em orifical, anoderma, pectínea e suprapectínea e quanto ao posicionamento horário circunferencial (1-12h), sendo considerada a comissura anal anterior como marcador da posição 12h (Figura 6).

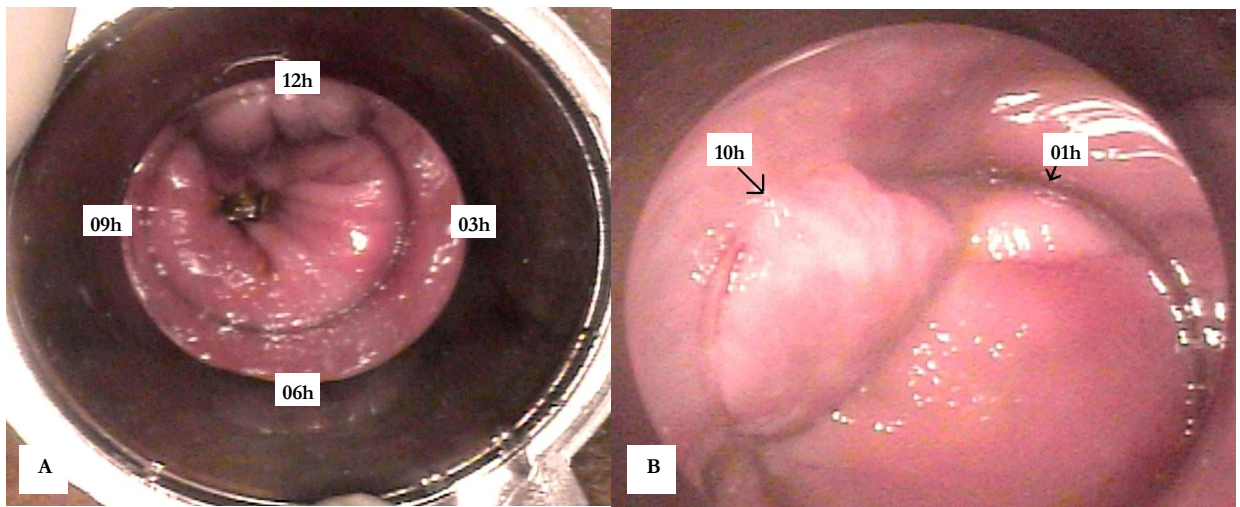


Figura 6 - Mucosa anal.

Legenda: A: mucosa normal com classificação horária, B: lesões brancacentas às 10 e 01h - setas.

As áreas brancacentas predominantes foram biopsiadas sob infiltração de lidocaína a 2% quando abaixo da linha pectínea. Uma segunda biópsia foi realizada em área não brancacenta, preferencialmente na linha pectínea. As amostras foram acondicionadas em frascos com solução fixadora de formalina tamponada a 10% de forma a imergir completamente a amostra, hermeticamente fechadas, identificadas com números aleatórios e enviadas para processamento no laboratório de anatomia patológica da FMTAM.

Ambas as amostras foram destinadas à quantificação das DC pela técnica da imunohistoquímica e à análise histopatológica convencional. Nos pacientes em que não se produziram colorações brancacentas, foi realizado biópsia única sob anestesia local, na linha pectínea às 7h, e aplicado o protocolo acima descrito para quantificação das DC e estudo histopatológico.

Os achados à AMI foram anotados numa ficha denominada requisição de exame histopatológico (Anexo 2), sendo o laudo descritivo apontados no verso deste formulário.

4.4.4 Análise histopatológica

No laboratório de anatomia patológica da FMTAM, as amostras conservadas em formol tamponado a 10%, por no máximo 24 horas, foram preparadas para a análise histológica e imunohistoquímica, sendo submetidas a processos de desidratação, fixação com zinco (*IHC Zinc fixative*, ref 550523, BD Pharmingen®) por 24 h às 48 h visando melhorar a recuperação antigênica (*BD Pharmigen*), inclusão em parafina, confecção dos blocos e secção do tecido em fatias com espessura de 4µ. A seção histológica foi montada em lâmina silanizada com extremidade fosca e corada pela técnica da hematoxilina-eosina (BEHMER, 1976).

Após cobertura com lamínula, as lâminas foram observadas à microscopia óptica à procura de alterações teciduais inflamatórias, citopáticas, como as produzidas pelo HPV, neoplasia intra-epiteliais anais (NIA) e neoplásicas, conforme discriminado (Quadro 3).

Quadro 3

Classificação histopatológica das amostras anorretais

CLASSIFICAÇÃO DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS	
NEG	Negativo para lesão intra-epitelial escamosa anal. Inclui alterações benignas inflamatórias, reacionais e metaplásicas
NIA I/II	Neoplasia intra-epitelial de baixo ou moderado grau
NIA III	Neoplasia intra-epitelial de alto grau ou severa
CEPisp	Carcinoma epidermóide <i>in situ</i>
CEPinp	Carcinoma epidermóide invasivo
ADCisp	Adenocarcinoma <i>in situ</i>
ADCinp	Adenocarcinoma invasivo

Fonte: Apgar; Zoschnick (2003); Sobhany et al. (2004); Abramowitz et al. (2007).

O exame histopatológico baseou-se na presença de hiperpapilomatose associada à

hiperacantose e à presença de coilócitos. NIA I/II foi identificada pelo espessamento leve restrito ao terço inferior (NIA I) ou a metade do epitélio (NIA II), com perda da arquitetura, sem figuras de mitoses atípicas. NIA III na qual há extensa destruição da arquitetura de todo epitélio, presença de atipias citoplasmáticas, nucleares e figuras de mitose, e por fim podendo evoluir para o carcinoma *in situ* e o invasivo escamoso que apresentam infiltração da lâmina própria por aglomerados de células tumorais (ABRAMOWIT et al., 2007; APGAR; ZOSCHNICK, 2003; BANDEIRA et al., 2001).

Quando fora necessário a realização de mais de uma biópsia em tecido brancacento num mesmo paciente, o exame que apresentou maior grau de lesão tecidual foi selecionado para análise.

4.4.5 Análise imunohistoquímica

A coloração imunohistoquímica para a detecção das DC foi realizada em secções histológicas retiradas dos espécimes de biópsias anorretais não-brancacentas e brancacentas à AMI.

Após desparafinização com xilol e hidratação, conforme preconizado por Behmer et al. (1976), as lâminas foram dispostas num recipiente porta-lâminas de vidro temperado e submetidas à **recuperação antigênica**: imersão das lâminas em solução de citrato (água destilada 1000 ml, ácido cítrico 0,230g, pH 6.0) e colocados em banho-maria em água comum em microondas por 07 minutos em potência média. Aguardou-se 1,5 minutos e completou-se o recipiente com citrato quando necessário, para evitar o ressecamento das lâminas, que a seguir foram recolocadas por mais 07 minutos em microondas. Após o resfriamento natural desprezou-se o citrato e imergiram-se as lâminas em PBS (10mM de fosfato de sódio a 0,9% e pH de 7,5), 02 banhos de 5 min cada. Bloqueio da peroxidase endógena: as lâminas foram submersas em banho de 5 min em 100 ml de metanol com 1,72 ml de água oxigenada, seguido de 02 banhos de PBS de 5 minutos cada. Desprezou-se o PBS e dispuseram-se as

lâminas em solução com 5g de leite bovino desnatado diluído em 100ml de PBS por 5 minutos, seguido por mais 1 banho com água destilada e 3 banhos de PBS de 05 minutos cada. Aplicação do anticorpo (Ac) primário: Colocamos o Ac primário anti-CD1a (IgG1, κ , MTB1, ref. 235-L-CE, Novocastra[®]) que coram as células dendríticas imaturas da epiderme e algumas subepiteliais, e o anti DC-SIGN (CD-209, rato IgG_{2b}, κ , ref. 551249, BD Pharmingen[®]) que coram as DC imaturas subepiteliais que expressam DC-SIGN. Aplicou-se os AC anti-CD1a e anti-DC-SIGN sobre lâminas distintas de um mesmo paciente, diluídos em PBS na proporção de 1:30 e 1:50 respectivamente, diluição validada através dos testes realizados com controles positivos em pele saudável. Os AC foram deixados em contato com o tecido da amostra, por toda a noite, em câmara-úmida à 4 °C. No dia seguinte a reação foi retomada e as lâminas lavadas em PBS, 03 banhos de 5 minutos cada, incubando-as em seguida com o AC secundário biotilado pronto para o uso (Novocastra[®], ref. 103) e (biotilado de cabra anti-rato, Ig policlonal, ref. 550337, BD Pharmingen[®]) 1:150 por 60 minutos, seguidos da aplicação de streptavidina (Novocastra[®], ref 104) por 30 min. Lavamos as lâminas 3 vezes em solução de PBS, por 05 minutos cada. Revelação e Montagem: Incubaram-se as lâminas em diaminobenzidina (DAB) a 60 mg % à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, por 5 a 10 minutos ou até que se desenvolvesse um precipitado castanho-dourado tênue. Imergiram-se as lâminas em água destilada corrente, e realizou-se a contra-coloração com hematoxilina de Harris, por 1 minuto seguido de novo banho em água destilada. As lâminas, em seguida foram desidratadas em banhos rápidos progressivos de etanol a 50%, 70% e 80%, secadas naturalmente e montadas com bálsamo do Canadá[®] sob lamínulas.

Em cada reação foi utilizado como controle negativo, lâminas do próprio paciente, utilizando-se solução PBS em substituição ao anticorpo primário. Como controle positivo, foi utilizado um fragmento de pele humana submetido ao mesmo processo das amostras dos pacientes.

4.4.6 Determinação da densidade de volume (Vv) das células dendríticas

No presente estudo, a densidade de volume (volume relativo) das células dendríticas encontradas na região epitelial e subepitelial da biópsia anal foi determinada por meio da contagem de pontos que tocavam a estrutura de interesse em relação ao espaço de referência (HOWARD; REED, 1998).

As seções foram visualizadas diretamente na tela plana de um monitor de 15 polegadas e sobre a mesma foi disposto um sistema teste de pontos impresso em uma transparência (Apêndice B). Um microscópio ótico Axioplan HBO 50, Zeiss® foi acoplado a uma câmera digital Samsung®, SCC31 e utilizado o programa ATI multimedia center® para visualização das imagens.

O sistema teste foi composto por 2080 pontos finos e 360 pontos grossos. Os pontos finos foram usados para a contagem de células DC CD1a⁺ e DC DC-SIGN⁺, enquanto que os pontos grossos foram contados sobre o espaço de referência (região epitelial e subepitelial da biópsia). O volume relativo foi encontrado a partir do cálculo disponibilizado (Apêndice C).

As células por sua topografia e morfologia foram classificadas e codificadas numericamente em: células com coloração específica para CD1a dispostas no epitélio estratificado e ocasionalmente na região subepitelial (1), células do epitélio estratificado (2), células subepiteliais (3), células do epitélio simples colunar (5), estruturas glandulares (6), células com coloração específica para o DC-SIGN (7), e ainda as células com coloração acastanhadas localizadas na camada basal passíveis de serem confundidas com melanócitos (4).

Os pontos celulares contados conforme a codificação numérica, foram quantificados em no máximo de 07 campos consecutivos e no mínimo de 04 campos quando se atingiu 200 células de interesse (DC CD1a⁺ e DC DC-SIGN⁺) (HOWARD; REED, 1998), com aumento de ótico de 10 x.

A relação entre os pontos celulares mensurados foram utilizadas na análise entre os grupos. As amostras dos pacientes submetidas à coloração imunohistoquímica foram classificadas como positivas para a expressão DC, quando do desenvolvimento de coloração amarronzada

intensa específica predominantemente observada no núcleo e no citoplasma (Figuras 7 a 12).

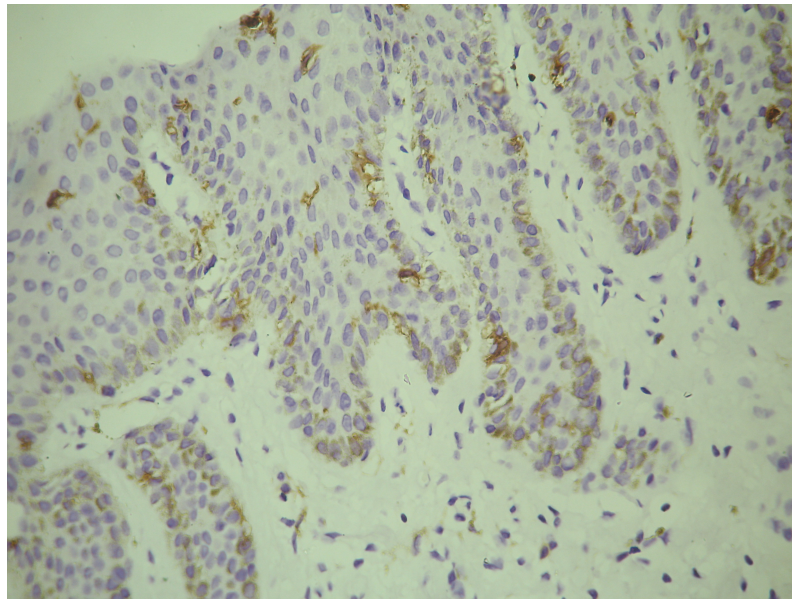


Figura 7 - DC CD1a⁺.

Coloração acastanhada específica das DC CD1a⁺ e inespecífica na camada basal (Melanócitos?).

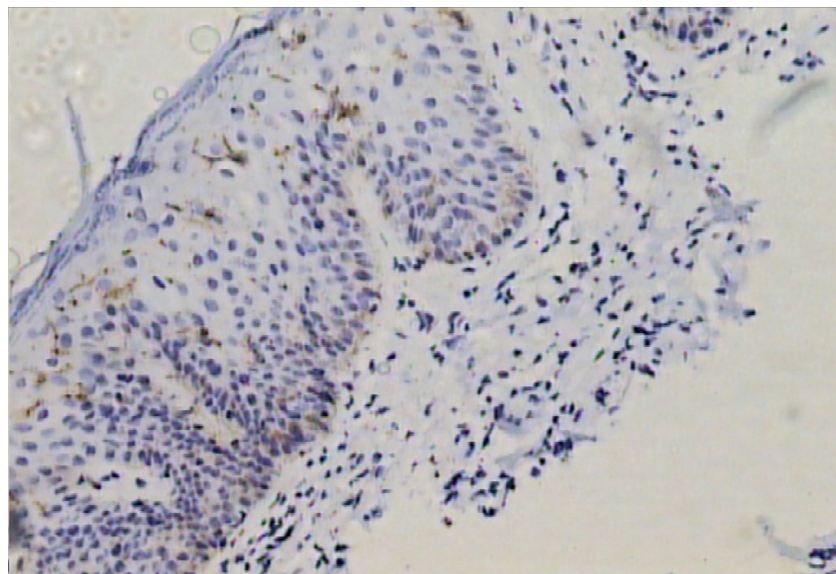


Figura 8 - 503/06: DC CD1a⁺

Coloração acastanhada específica das DC CD1a⁺ no epitélio

Os prolongamentos das células dendríticas são facilmente identificáveis.

Dados do paciente: HIV (-), Heterossexual, CSIL(-), DST(-), Histopatológico: ASIL I.

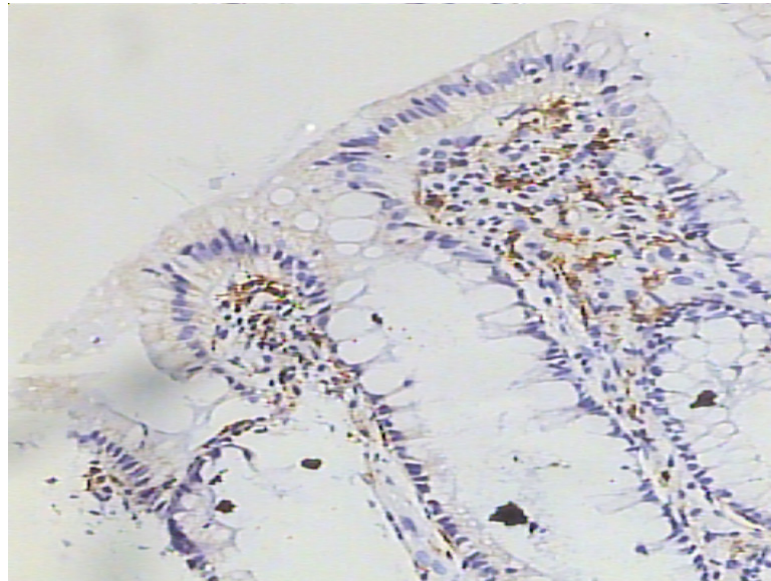


Figura 9 - 011/06: DC DC-SIGN⁺:

Coloração acastanhada específica sub-epitelial e ao redor das glândulas retais das DC DC-SIGN⁺.
Os prolongamentos das células dendríticas são facilmente identificáveis.

Dados do paciente: HIV(-), Casada, AR (+), CSIL(+), DST (-), Histopatológico normal

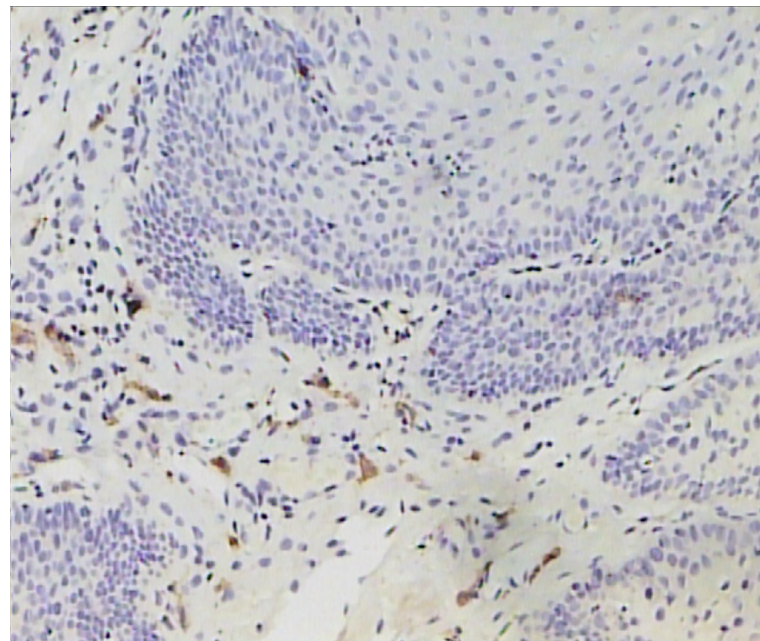


Figura 10 - 466/07: DC DC-SIGN⁺

Coloração acastanhada específica das DC DC-SIGN⁺ na região sub-epitelial e ao redor das glândulas retais.

Dados do paciente: HIV (+), Homossexual, Solteiro, HAART(-),Histopatológico: NIA I.

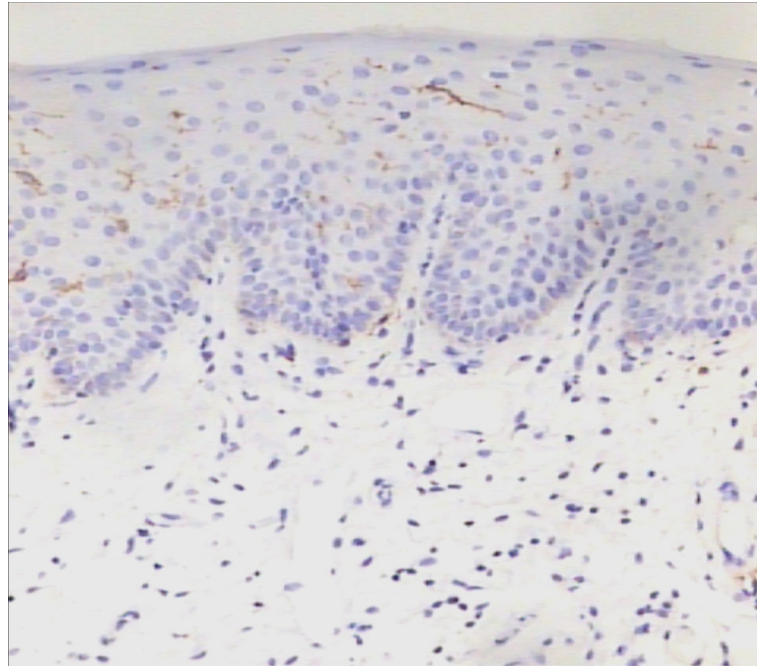


Figura 11 - 1130/07: DC CD1a⁺.

Coloração acastanhada específica das DC CD1a⁺ na região epitelial e em algumas células da camada basal.

Dados do paciente: HIV (-), homossexual, CSIL(-), Tabagista, Histopatológico: NIA I.

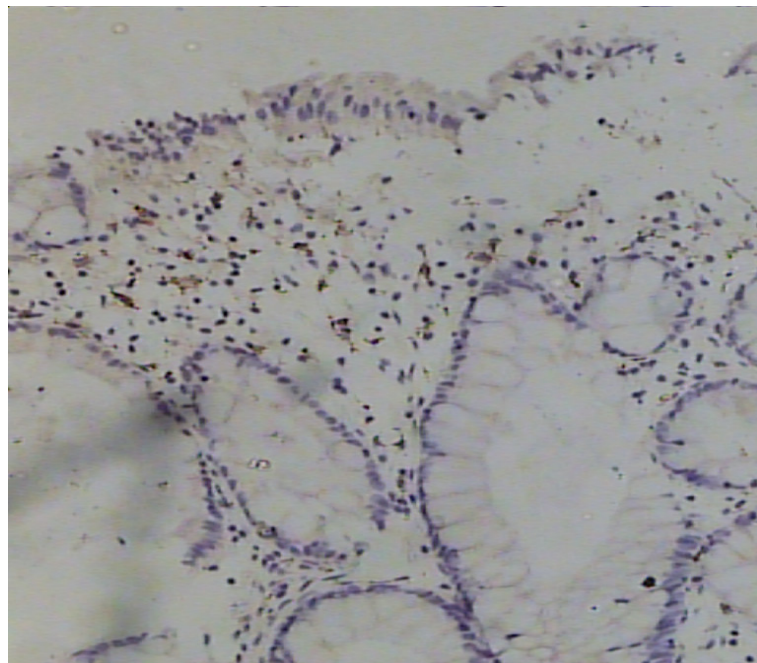


Figura 12 - 033/06: DC-SIGN⁺.

Coloração acastanhada específica das DC-SIGN⁺ na região sub-epitelial e ao redor das glândulas retais

Dados do paciente: HIV(-), Heterossexual, AR(+), DST(-), Histopatológico normal.

A variação normal da frequência das DC a ser considerada neste estudo foi à calculada pela média da frequência de DC de pacientes sem infecção pelo HPV, NIA ou HIV sugerida nos laudos histológicos e na sorologia dos pacientes.

4.4.7 Diagnóstico sorológico do HIV

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

- a) Assintomáticos para aids: realizou-se o teste de reação de ensaio imunoenzimático - ELISA;
- b) Sintomáticos para aids: realizaram-se dois testes rápidos - Determine[®] e Rapid Check[®], sendo os casos discordantes confirmados pelo Unigold[®].

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

4.4.8 Contagem de linfócitos T CD₄⁺ e determinação da carga viral

Coletou-se do prontuário ambulatorial dos pacientes com HIV/aids da FMTAM, os resultados mais recentes referentes à contagem dos linfócitos CD₄⁺ realizados pela técnica da citometria de fluxo no aparelho BD FACSCalibur[®], e à determinação da carga viral do HIV-1 pelo ensaio NASBA Biomérieux[®].

As quantificações aceitas foram as coletadas no período máximo de 06 meses desde que não tenha ocorrido nenhum episódio de infecção oportunista no período, nos casos contrários, nova determinação foi realizada.

4.5 Considerações éticas

De acordo com 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 FMTAM.

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 125 pacientes, destes 70 eram HIV positivos e 55 HIV negativos. Os pacientes foram encaminhados ao ambulatório de coloproctologia da Fundação de Medicina Tropical do Estado do Amazonas (FMTAM), provenientes de seu ambulatório de DST/aids ou da rede pública de assistência à saúde da cidade de Manaus-AM.

Nas análises buscou-se abordar os principais fatores comportamentais historicamente implicados na carcinogênese anal. Quanto ao gênero, 69/125 (55,2 %) pacientes pertenciam ao sexo masculino e 56 ao sexo feminino, observou-se diferença significativa ao nível de 5%. No grupo de pacientes HIV positivos 73,9 % eram do sexo masculino. O *odds ratio* (OR) ou razão de chances foi de 5,52, demonstrando um fator de proteção para o gênero feminino (tabela 1). Os dados foram concordantes com os estudos de Nadal et al. (2006a) que descreveram o câncer anal nos pacientes HIV positivos, como seis vezes mais freqüente no sexo masculino.

Tabela 1

Distribuição, segundo a presença de infecção pelo HIV, dos dados sócio-comportamentais dos pacientes atendidos na FMTAM.

Variáveis	HIV				Total	OR	p-valor*
	Positivo N	%	Negativo N	%			
Gênero						5,52	<0,001
Masculino	51	73,9	18	26,1	69		
Feminino	19	33,9	37	66,1	56		
Idade (anos)							0,148**
Média ± DP	36,4 ± 9,5		40,0 ± 13,3				
Mediana	36,0		39,5				
Amplitude	19 – 60		14 – 78				
Estado civil							0,040
Solteiro/Divorciado	55	61,8	34	38,2	89	2,26	
Casado	15	41,7	21	58,3	36		

Legenda: OR: *odds ratio* ou Razão de chances.

* Teste do qui-quadrado de Pearson; ** Teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

p-valor em negrito itálico indica diferença estatística ao nível de 5%.

Na população de estudo, a média de idade do grupo com neoplasia intra-epitelial anal (NIA) foi de 36,8 anos e de 39,2 no grupo controle, as diferenças não foram significativas ($p=0,25$). Considerando-se os graus de NIA, a média no grupo com NIA leve (NIA I) ou moderada (NIA II) foi de 36,1 anos e no grupo NIA severa (NIA III) foi de 39,3 anos. Os dados são concordantes com os estudos de Manzione, et al. (2004) que relataram 80,1% dos casos de NIA em pacientes com mais de 31 anos portadores de condiloma anal (Tabela 2).

A média de idade dos pacientes foi de $36,4 \pm 9,5$ anos para o grupo HIV positivo e de $40,0 \pm 13,3$ anos para o grupo HIV negativo, sem diferenças significativas entre os grupos, que corroboram com os dados oficiais nacionais do Ministério da saúde, que descreveram 75 % dos casos de aids no país como ocorrentes na faixa etária comportada entre 25 e 49 anos (BRASIL, 2006) (tabela 1).

Relacionando-se os dados dos pacientes com HIV/aids com a ocorrência de NIA, a mediana de idade encontrada foi de 37 anos para o subgrupo NIA I e de 41 anos para a NIA III. Não houve diferença significativa quando se comparou com o grupo HIV negativo com exame histopatológico normal ou benigno (retite ou proctite aguda ou crônica inespecífica) considerado controle, que apresentou mediana coincidente com o grupo NIA I (tabela 2).

Tabela 2

Mediana de idade quanto à presença de NIA e ao diagnóstico do HIV nos pacientes atendidos no ambulatório da FMTAM.

Diagnóstico do HIV/ Exame histopatológico	Mediana (anos)
HIV(-)/Histopatologia Normal	41,5
HIV(-)/Histopatologia NIA	38,0
HIV(+)/Histopatologia Normal	36,0
HIV(+)/Histopatologia NIA	28,0
HAART/Histopatologia Normal	32,5
HAART/ Histopatologia NIA	38,0

Legenda: HIV: Vírus da imunodeficiência humana, HAART: *High Active Antiretroviral Therapy*.
P valor: 0,0850.

Apesar da ausência de significância estatística, observou-se elevação da mediana entre os grupos HIV positivos e HIV positivos em uso da terapia anti-retroviral de alta potência (HAART), podendo traduzir a progressão da doença HIV/NIA com o aumento da longevidade advindo da HAART (MANZIONE et al., 2003). Estes dados discordam dos descritos por Klencke, Palefsky, (2003) que encontraram elevação acentuada do risco em pacientes HIV positivos com idade inferior a 30 anos.

Na análise do estado civil, 77/125 (61,6%) eram solteiros, 28,8% casados, 10 separados e 02 viúvos. Após agrupar os pacientes entre “casados” e “não casados”, com a finalidade de avaliar se a união estável comportava-se como fator de proteção. Dos 89 pacientes “não casados”, 61, 8% eram do grupo HIV positivo, indicando ser a união estável um fator de proteção para a infecção pelo HIV, *OR* de 2,26, *p*: 0,040 para os solteiros (Tabela 1).

Qualitativamente o hábito do tabagismo foi mensurado, 50/125 pacientes relataram o uso regular da droga, destes 70 % eram provenientes do grupo HIV positivo, havendo significância estatística entre os grupos (*OR*: 2,77) (Tabela 3).

Daling et al. (1987), que demonstrou risco para o desenvolvimento do câncer anal com *RR* de 7,7 em mulheres e 9,4 entre homens tabagistas. No mesmo estudo, não se demonstrou risco no grupo controle composto por pacientes portadores de câncer colônico. Essas afirmativas são corroboradas por Kreuter et al. (2005), mas discordantes dos estudos de Chin-Hong et al. (2005), no qual localização geográfica e tabagismo não foram associados a NIA.

No câncer cervical, foi descrito a presença de um dos carcinógenos do tabaco, o NNK (4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butadona), que seria metabolizado pelo tecido cervical humano em produtos genotóxicos e carcinogênicos (CASTELLSAGUÉ et al., 2002). Efeitos indiretos do tabaco, como diminuição das células de Langerhans e outros marcadores da resposta imune e diminuição dos antioxidantes ingeridos também foram destacados como

mecanismos pelos quais o fumo poderia afetar a progressão para a neoplasia maligna do colo uterino (BOSCH et al., 2002; CASTELLSAGUÉ et al., 2002).

O uso de drogas ilícitas foi abordado e as mais citadas pelos usuários foram a maconha seguida da cocaína e do crack. Dos 125 pacientes analisados, 110 negaram seu uso o que foi equitativamente distribuído entre os grupos HIV positivo e negativo. Porém, 15 (100%) dos pacientes que confirmaram o seu uso eram HIV positivos, porém devido à pequena casuística não foi possível aplicar a estatística de teste (Tabela 3).

Tabela 3

Distribuição segundo a presença de infecção pelo HIV em relação ao uso de drogas nos pacientes atendidos na FMTAM.

Variáveis	HIV				Total	OR	p-valor*
	Positivo		Negativo				
	N	%	N	%			
Tabagismo						2,77	0,010
Sim	35	70,0	15	30,0	50		
Não	35	46,7	40	53,3	75		
Uso de drogas						***	
Sim	15	100,0	-	-	15		
Não	55	50,0	55	50,0	110		

p-valor em negrito itálico indica diferença estatística ao nível de 5 %.

* Teste do qui-quadrado de Pearson. *** Não foi possível aplicar a estatística de teste.

Quanto ao início da atividade sexual, 82/125 (65,6 %) da população de estudo referiram início da vida sexualmente ativa após 15 anos de idade. No grupo HIV negativo, 40/54 (48,8 %) referiram início da atividade após os 15 anos e no grupo HIV positivo 63,2 % iniciaram a atividade sexual antes dos 15 anos. A diferença entre os grupos não foi significativa (tabela 4).

Tabela 4

Distribuição, segundo a presença de infecção pelo HIV, do comportamento sexual dos pacientes atendidos na FMTAM.

Variáveis	HIV				Total	OR	p-valor*
	Positivo		Negativo				
	N	%	N	%			
Início atividade sexual						1,63	0,221
< 15 anos	(24)	63,2	14	36,8	38		
≥ 15 anos	(42)	51,2	40	48,8	82		
Nº parceiros no último ano						0,33	0,010
≤ 1	(41)	47,7	45	52,3	86		
> 1	(25)	73,5	9	26,5	34		
Nº parceiros nos últimos 5 anos							0,002
≤ 1	(20)	42,6	27	57,4	47		
2 a 9	(18)	51,4	17	48,6	35		
≥ 10	(27)	81,8	6	18,2	33		
Opção sexual						4,56	<0,001
Homossexual/Bissexual	(33)	78,6	9	21,4	42		
Heterossexual	(37)	44,6	46	55,4	83		
Adeptos do sexo anal						1,93	0,094
Sim	(53)	60,9	34	39,1	87		
Não	(17)	44,7	21	55,3	38		

p-valor em negrito itálico indica associação estatística ao nível de 5%.

* Teste do qui-quadrado de Pearson.

Ao avaliar-se o número de parceiros sexuais no último ano, 86 (71,6 %) de 120 pacientes informaram terem mantido relações sexuais com menos que 01 parceiro no período, e 25/34 (73,5 %) dos HIV positivos referiram 01 ou mais parceiros e 45 (52,3%) no grupo HIV negativos referiram 01 ou nenhum parceiro. Houve diferença significativa entre os grupos (OR: 0,33, p: 0,010) (Tabela 4).

No estudo abordou-se também o número de parceiros sexuais nos últimos 05 anos. No grupo HIV negativo 27/47 (57,4%) informaram terem tido apenas 01 ou nenhum parceiro no período, contra 42,6% do grupo HIV positivo. 06 pacientes do grupo HIV negativo e 27 (81,8%) do grupo HIV positivo (18 do subgrupo HAART) afirmaram terem tido ≥ 10 parceiros sexuais nos últimos 5 anos. $p: 0,002$ (Tabela 4).

Quanto à ocorrência de NIA e o número de parceiros sexuais nos últimos 05 anos, no grupo denominado controle, 18/29 (62,1%) dos pacientes referiram 1 ou nenhum parceiro no período. No grupo HIV positivo sem NIA a afirmativa foi feita por 12% dos pacientes, e por 17/40 (42,5 %) dos HIV positivos com NIA. As diferenças não foram significativas entre os grupos. Os dados discordam dos estudos de Daling et al. (1987), no qual ter mais que 05 parceiros sexuais constitui risco independente para o câncer anal. Porém Bosch et al., (2002), Klencke, Palefsky (2003) salientaram que o verdadeiro fator seria a maior exposição a vários tipos de HPV, em destaque os oncogênicos, aumentando o risco de lesões intra-epiteliais e do câncer cervical e anal.

Na análise quanto à opção sexual, 83/125 pacientes declararam-se heterossexuais masculinos ou femininos. Destes, 46 (55,4 %) eram HIV negativos. Para análise do risco, agrupou-se os pacientes em dois grupos, heterossexuais e homossexuais ou bissexuais. Neste último grupo composto por 42 pacientes, foram agrupados 27 homens que fazem sexo com homens (HSH), 13 homens que fazem sexo com homens e mulheres (HSHM), 01 mulher que faz sexo com mulheres (MSM) e 00 mulheres que fazem sexo com homens e mulheres (MSMH) (Tabela 4).

Na análise entre os grupos, 33/42 (78,6 %) dos homossexuais ou bissexuais eram HIV positivos contra 21,4 % do grupo HIV negativo. (OR: 4,56) (tabela 4), apontando a heterossexualidade como um fator de proteção.

Daling et al. (1987), que encontraram entre pacientes com câncer anal escamoso, 47,1% de homossexuais masculinos, 28,6 % de heterossexuais masculinos e 28,3 % de mulheres heterossexuais com história de verrugas genitais. No mesmo estudo a homossexualidade foi apontada como fator de risco para o câncer anal entre homens, com RR de 33,1. Palefsky et al. (1997) descreveram resultados semelhantes.

Buscou-se avaliar o impacto da opção sexual na prevalência de NIA nos grupos estudados e observou-se diferença significativa quanto ao HIV, porém sem que se possa afirmar correlação entre a opção sexual e o desfecho NIA, mas sim que a proporção de NIA nos pacientes HIV positivos e negativos diferiu significativamente quanto à opção sexual (Tabela 5).

Chin-Hong et al. (2005) descreveram elevada prevalência de NIA entre homossexuais HIV negativos AR, sendo 15% de NIA I e 5% de NIA III, já para Sobhani et al. (2001); (2004), a AR não se mostrou como fator de risco isolado para o desenvolvimento da NIA.

Tabela 5

Distribuição segundo a opção sexual e ocorrência de NIA nos grupos de pacientes atendidos na FMTAM.

Diagnóstico do HIV/ NIA	Opção sexual				Total
	Homo/bissexual		Heterossexual		
	N	%	N	%	
HIV (-)/ Normal	(3)	9,1	30	90,9	33
HIV (-)/ NIA	(6)	27,3	16	72,7	22
HIV positivo/ Normal	(5)	50,0	5	50,0	10
HIV positivo/ NIA	(11)	57,9	8	42,1	19
HAART/Normal	(7)	43,8	9	56,3	16
HAART/ NIA	(10)	40,0	15	60,0	25
Total	(42)	33,6	83	66,4	125

Legenda: HAART: *High activity antiretroviral therapy* (terapia anti-retroviral de alta potência), NIA: neoplasia intra-epitelial anal. Teste Qui-quadrado de Pearson. p-valor = 0,005.

Quanto à prática do sexo anal receptivo (AR), 87/125 (69,6 %) pacientes declararam-se adeptos. Destes, 34 eram HIV negativos e 53 (60,9 %) HIV positivos. Não apresentando diferença significativa entre os grupos (tabela 6).

Na análise quanto à prevalência de NIA entre pacientes AR, no grupo com laudo histológico normal/benigno, dos 59 pacientes 35 (59,3 %) eram AR. Nos portadores de NIA I, 41/51 (80,4 %) era AR e dentre os NIA III 11/15 (73,3 %). As diferenças foram significativas ao nível de 5 % ($p:0,054$) (tabela 6). Daling et al. (1987), descreveram o histórico de intercurso anal receptivo como fortemente associado à ocorrência de câncer anal, com RR de 33,1 no gênero masculino e de 1,8 no feminino. No Amazonas, Avi et al., (2006) encontraram significância entre as taxas de NIA III em pacientes portadoras de neoplasia intra-epitelial cervical adeptas a prática.

Tabela 6

Distribuição dos achados à histopatologia em relação ao comportamento sexual dos pacientes atendidos na FMTAM.

Variáveis	Histopatológico						Total	p-valor*
	Normal		NIA I		NIAIII			
	N	%	N	%	N	%		
Adeptos do sexo anal								0,054
Sim	(35)	59,3	41	80,4	11	73,3	87	
Não	(24)	40,7	10	19,6	4	26,7	38	
Total	(59)		51		15		125	

Legenda: HAART: *High activity antiretroviral therapy* (terapia anti-retroviral de alta potência). NIA: neoplasia intra-epitelial anal.

teste Qui-quadrado de Pearson

p-valor em negrito itálico indica associação estatística ao nível de 5%.

Quanto ao histórico de doenças sexualmente transmissíveis (DST), 63/125 pacientes relataram ter se infectado com ao menos um tipo de DST, sendo 14 do grupo HIV negativo e 49 (74,5%) do grupo HIV positivo. As diferenças apresentadas foram significantes ao nível de 1% (tabela 7). A DST mais prevalente foi o HPV/condiloma, seguido da gonorréia (22/63), herpes (20/63) e sífilis (17/63). Daling et al. (1987) relacionaram o risco maior de câncer anal ao histórico de gonorréia em homens heterossexuais com risco relativo (RR) de 17,2, herpes simples (RR: 4,1) e clamídia em mulheres (RR de 2,3). Neste estudo a prevalência de DST entre pacientes HIV positivos e negativos demonstrou um OR de 6,83 entre os grupos (tabela 7).

Tabela 7

Distribuição, segundo a presença de infecção pelo HIV, do histórico de DST nos pacientes atendidos na FMTAM.

Variáveis	HIV				Total	OR	p-valor*
	Positivo		Negativo				
	N	%	N	%			
DST prévia						6,83	<0,001
Sim	(49)	77,8	14	22,2	63		
Não	(21)	33,9	41	66,1	62		

Legenda: DST: Doenças sexualmente transmissíveis.

p-valor em negrito itálico indica diferença estatística ao nível de 5 %.

* Teste do qui-quadrado de Pearson.

As frequências de NIA entre os grupos quanto à ocorrência de DST prévias são demonstradas na tabela 8. Dentre os pacientes HIV negativos com histopatológico normal ou benigno, denominado grupo controle, 66,7 % (22/33) não referiram histórico de DST, mesmo nos pacientes com NIA (19/22). Nos subgrupos HIV positivo

e HAART a maioria dos pacientes (49/70) apresentaram DST. Na análise entre os grupos HIV positivos e negativos houve diferença ao nível de significância de 1 %.

Tabela 8

Distribuição dos achados à histopatologia segundo o histórico de DST entre grupos e subgrupos de pacientes atendidos na FMTAM.

Grupos à histopatologia	DST prévia				Total
	Sim		Não		
	N	%	N	%	
HIV negativo/ Normal	(11)	33,3	22	66,7	33
HIV negativo/NIA	(3)	13,6	19	86,4	22
HIV positivo/ Normal	(7)	70,0	3	30,0	10
HIV positivo /NIA	(12)	63,2	7	36,8	19
HAART/ Normal	(13)	81,3	3	18,8	16
HAART/ NIA	(17)	68,0	8	32,0	25
Total	(63)	50,4	62	49,6	125

Legenda: DST: Doenças sexualmente transmissíveis, HAART: *High activity antiretroviral therapy* (terapia anti-retroviral de alta potência), NIA: neoplasia intra-epitelial anal.
p-valor < 0,001 (Qui-quadrado de Pearson).

Quanto ao histórico ou a ocorrência atual de HPV/condiloma, 32/121 pacientes a referiram, sendo 21 (65,6%) HIV positivos, sem diferença significativa entre os grupos. Quando acrescentamos à avaliação histórica e clínica do HPV o exame histopatológico sugestivo de HPV pela caracterização do efeito citopático viral (bi-nucleação, hiperpapilomatose associada à hiperacantose, desarranjo da arquitetura celular e coilócitos) observado em 51 exames, e a detecção através da reação de cadeia de polimerase (PCR) para o HPV, realizado em 16 pacientes, descreveu-se então uma nova variável que foi denominada HPV geral, que alcançou positividade para o HPV em 74/125 (59,2 %) pacientes, sendo 43/7 (61,4 %) no grupo HIV positivo, (p: 0,474) (tabela 9).

Tabela 9

Distribuição, segundo a presença de infecção pelo HIV, do histórico de DST e diagnóstico do HPV dos pacientes atendidos na FMTAM.

Variáveis	Grupos						Total	p-valor*
	HIV positivo		HIV negativo		HAART			
	N	%	N	%	N	%		
HPV geral								0,474
Sim	(20)	27,0	31	41,9	23	31,1	74	
Não	(9)	17,6	24	47,1	18	35,3	51	
DST prévia								<0,001
Sim	(19)	30,2	14	22,2	30	47,6	63	
Não	(10)	16,1	41	66,1	11	17,7	62	

Legenda: HPV: Papiloma vírus humano, DST: Doenças sexualmente transmissíveis, HAART: *High activity antiretroviral therapy* (terapia anti-retroviral de alta potência).

p-valor em negrito itálico indica diferença estatística ao nível de 5%. * Teste do qui-quadrado de Pearson.

Legenda: HPV: papilomavirus humano, DST: doença sexualmente transmissível.

Os resultados constantes na Tabela 9, contrariam os estudos de Palefsky et al., (1998) que referiram uma chance seis vezes maior de detecção do HPV em pacientes HIV positivos com sete vezes mais chance de permanecerem infectados. Abramowitz et al. (2007), destacam que as taxas de HPV não são relacionadas a HAART, mas que níveis de linfócitos T CD4⁺ inferiores a 200 x 10⁶ células/l estariam associado a ocorrência de condiloma.

Na análise do HPV geral no subgrupo HIV positivo, 41/70 (58,57 %) usavam HAART destes 23 (56,1, %) foram positivos para o HPV geral. Não houve diferença significativa entre os subgrupos (tabela 10).

Tabela 10

Distribuição, segundo os subgrupos dos pacientes HIV positivos, do diagnóstico do HPV nos pacientes atendidos na FMTAM.

Variáveis	HIV positivo		HAART		Total	p-valor*
	N	%	N	%		
HPV geral						
Sim	(20)	69,0	23	56,1	43	0,276
Não	(9)	31,0	18	43,9	27	
Total	(29)	100,0	41	100,0	70	

Legenda: HPV: papilomavirus humano, DST: doença sexualmente transmissível, HAART: *High activity antiretroviral therapy* (terapia anti-retroviral de alta potência). * Teste do qui-quadrado de Pearson.

Avaliou-se o HPV geral em relação à presença de anormalidades benignas identificadas: presença de hemorróidas, fissuras, fístulas, plicomas e papilas hipertróficas durante o exame proctológico (patologia anorretal) e ao histórico de DST entre os grupos, (p: 0,352) (tabela 11).

Tabela 11

Distribuição, segundo resultado do HPV geral, da ocorrência de patologia anorretal e de DST dos pacientes atendidos na FMTAM.

Variáveis	HPV geral				Total	p-valor*
	Positivo		Negativo			
	N	%	N	%		
Patologia anorretal						0,352
Sim	(40)	54,8	33	45,2	73	
Não	(31)	63,3	18	36,7	49	
DST prévia						0,178
Sim	(41)	65,1	22	34,9	63	
Não	(33)	53,2	29	46,8	62	

Legenda: DST: Doenças sexualmente transmissíveis, HPV: Papilomavírus humano

* Teste do qui-quadrado de Pearson.

O diagnóstico molecular do HPV foi realizado segundo técnicas consagradas (BAUER; MANO; 1998; HAWS et al., 2004; REMMERBACH, et al., 2004) em 16/125 pacientes. Em decorrência da pequena amostra que envolveu apenas 01 paciente do grupo HIV positivo, limitou-se a descrição das distribuições das frequências encontradas. Dos 16 pacientes, 09 eram adeptos a AR destes, 88,8% (8) das amostras foram positivas no PCR de HPV, e dentre os pacientes com PCR positivo, 62,5% iniciaram atividade sexual após os 15 anos de idade (tabela 12).

Tabela 12

Distribuição dos dados epidemiológicos e da mediana de células dendríticas segundo o diagnóstico molecular do HPV nos pacientes atendidos na FMTAM.

Grupos	PCR				Total	p-valor*
	Positivo N	%	Negativo N	%		
AR						0,077
Sim	(8)	88,9	1	11,1	9	
Não	(3)	42,9	4	57,1	7	
Início da atividade sexual						0,214
< 15 anos	(1)	33,3	2	66,7	3	
≥ 15 anos	(10)	76,9	3	23,1	13	
Nº de parceiros no último ano						0,635
≤ 1	(8)	66,7	4	33,3	12	
2 a 9	(3)	75,0	1	25,0	4	
Nº de parceiros nos últimos 5 anos						***
≤ 1	(5)	55,6	4	44,4	9	
2 a 9	(4)	80,0	1	20,0	5	
≥ 10	(1)	100,0	-	-	1	
Idade						0,872**
Média ± DP	36,91 ± 9,91		37,8 ± 10,56			
Mediana	39,00		41,00			
DC CD1a⁺						0,843**
Média ± DP	4,99 ± 4,33		4,90 ± 1,70			
Mediana	4,30		4,90			
DC DC-SING⁺						0,835**
Média ± DP	6,92 ± 4,39		5,04 ± 1,97			
Mediana	7,43		5,42			
DC CD1a⁺/ DC-SING⁺						0,697**
Média ± DP	1,07 ± 1,00		1,23 ± 0,99			
Mediana	0,98		0,86			
DC CD1a⁺+ DC-SING⁺						0,139*
Média ± DP	11,91 ± 5,48		7,7 ± 1,15			
Mediana	10,29		8,21			

Legenda: PCR: Reação de cadeia da polimerase, DC CD1a⁺: Célula dendrítica da família do grupo I das proteínas CD1, DC DC-SING⁺: Célula dendrítica ICAM-3 grabbing, nonintegrin.

* Teste Exato de Fisher ** Teste de Mann-Whitney *** Não foi possível aplicar a estatística de teste.

As amostras foram seqüenciadas para identificação do tipo viral mais prevalente do HPV, segundo técnica descrita por Altschul et al. (1997). O tipo mais prevalente foi o 6 concordante com os estudos de Palefsky et al. (1998a) que descreveram a associação dos tipos 6 e 11 com as verrugas genitais; e Palefsky et al.(1991); Martins (2001) afirmaram a maior prevalência dos tipos 16 e 18 no câncer anal e NIA (NADAL et al., 2006b).

Quanto à prevalência do HPV nos grupos estudados, acreditamos que os dados do presente estudo poderiam ser maximizados caso o PCR para o HPV, realizado em apenas 16/125, pudesse ter sido estendido ao universo amostral, pois a partir da fusão do DNA viral ao humano, as alterações citológicas ou à histopatologia não são mais observadas, necessitando-se de técnicas moleculares para a detecção (DOORBAR et al., 2005).

Sobhani et al. (2004) apontaram o HIV e a co-infecção HIV-HPV com risco independente para o desenvolvimento de NIA severa e câncer anal, com OR de 9,4 e 3,67 respectivamente. Nosso estudo revelou elevadas taxas de NIA entre os pacientes HIV positivos, com 62,85 % de prevalência e a co-infecção em 61,42 % dos pacientes, porém sem que tenha havido diferença significativa (tabela 9).

Em recente análise multivariada abordando fatores de risco associados ao condiloma e displasia em pacientes HIV positivos, o histórico de lesão anal associada ao HPV (OR=2,82) e AR (OR=4,29) foram significativas, não havendo relação com características ou estágios do HIV, geografia, tempo de conhecimento do perfil sorológico ou uso de HAART (ABRAMOWIT et al., 2007).

Quanto à presença de patologia anorretal benigna diagnosticada durante o exame proctológico, 73/122 pacientes apresentaram, destes 32 pertenciam ao grupo HIV negativo e 41 (56,2 %) ao HIV positivo (tabela 13). A elevada prevalência da patologia anorretal pode ser explicada pela elevada frequência de AR entre os grupos (69,6 %) por ser o trauma reconhecido como fator causal de patologias anorretais, e devido a elevada prevalência de constipação intestinal crônica na região e por a população HIV negativa ter sido encaminhada ao serviço por apresentar queixa proctológica.

Tabela 13

Distribuição da ocorrência da Patologia anorretal e dos laudos histopatológicos segundo a infecção pelo HIV nos pacientes atendidos na FMTAM.

Variáveis	HIV				Total	OR	p-valor*
	Positivo		Negativo				
	N	%	N	%			
Patologia anorretal						0,96	0,915
Sim	(41)	56,2	32	43,8	73		
Não	(28)	57,1	21	42,9	49		
Histopatológico anal							0,040
Normal	(26)	44,1	33	55,9	59	-	
NIA I (leve a moderada)	(34)	66,7	17	33,3	51		
NIA III (severa)	(10)	66,7	5	33,3	15		

Legenda: NIA: Neoplasia intra-epitelial anal. p-valor em negrito itálico indica diferença estatística ao nível de 5%. * Teste do qui-quadrado de Pearson.

Quanto à análise histopatológica, dos 125 pacientes, 59 (47,2 %) apresentaram exames normais ou de benignidade (retite ou proctite aguda/crônica inespecífica, e em 01 paciente tuberculose anal). Dos 66 pacientes com NIA, 77,27 % (51/66) apresentaram NIA I e 22,72 % (14/125) apresentaram NIA III ou carcinoma escamoso (01/125), totalizando uma prevalência de NIA de 52,8 %, (p: 0,040) (tabela 13).

Dentro do grupo HIV negativo estavam 33/59 (55,9 %) dos exames histopatológicos normais ou inflamatórios benignos. No presente estudo, a prevalência de NIA nos grupos foi de 52,8% e de 33,3% no grupo HIV negativo e 44/70 (66,7 %) entre os HIV positivos. As diferenças foram significativas ao nível de 1 % (OR de 2,54) (tabela 14).

Tabela 14

Distribuição segundo os laudos histopatológicos quanto à ocorrência de infecção pelo HIV nos grupos de pacientes atendidos na FMTAM.

Variáveis	HISTOPATOLÓGICO				TOTAL	OR	p-valor*
	NIA		NORMAL				
	N	%	N	%			
HIV							
POSITIVO	(44)	66,7	26	44,1	70	2,54	0,011
NEGATIVO	(22)	33,3	33	55,9	55		
TOTAL	(66)		59		125		

Legenda: NIA: Neoplasia intra-epitelial anal. p-valor em negrito itálico indica diferença estatística ao nível de 1%. * Teste do qui-quadrado de Pearson.

Este estudo apresentou prevalência de NIA superior ao estudo de Gimenez et al. (2005) que descreveram prevalência de 42% em HIV positivos, e inferiores aos 81 % entre HSH HIV positivos descritos por Palefsky et al. (2005), e corroborados por Manzione et al (2003). A estimativa da progressão à NIA III, segundo Palefsky et al. (1997) é de 49 % em 04 anos neste grupo e de 17 % nos demais.

Palefsky et al. (1998), Sobhany et al. (2002, 2004), Abramowitz et al. (2007) foram estudos são uníssomos em afirmarem a importância da presença da infecção pelo HIV no desfecho NIA. O efeito deletério sobre a imunidade celular e ação sinérgica da co-infecção HIV-HPV, em que partes do HIV como a proteína *tat*, potencializaria a expressão de E6 e E7 do HPV foi apontado (VERNON et al., 1993).

Neste estudo a taxa de NIA I foi de 77,3 % (51/66) destes 66,6% eram HIV positivos, semelhante ao descrito por Manzione et al., (2003). A prevalência de NIA III foi de 22,7 % (15/66), destes apenas 05 pacientes eram HIV negativos, inclusive o carcinoma escamoso e 10/15 (66,7 %) eram do grupo HIV positivo. As diferenças entre os grupos foram significativas ao nível de 5 % (tabela 13). Neste estudo a prevalência de NIA III foi semelhante à descrita por Manzione et al., (2003) e bastante superior aos estudos de Palefsky et al., (2002); Sobhani et al. (2004) e Gimenez et al.(2005). Este último trabalho realizado na mesma instituição revelou 7,1 %, de NIA III e 35,7 % de NIA I, concordando com os estudos de Palefsky et al, (2005) que revelou o aumento da prevalência de NIA no seguimento dos pacientes HIV positivos, particularmente os HSH.

Apesar da crescente preocupação da comunidade científica internacional no tocante a elevação das taxas de NIA, Nadal et al. (2007) descreveram, em análise prospectiva de 03 a 06 anos em pacientes 30 HIV positivos com NIA III, que nenhum dos pacientes evoluiu com câncer anal, porém a recidiva de NIA III pós tratamento foi de 16,7%.

Nos pacientes em uso da HAART observou-se 25/44 (56,8 %) das NIAs, mas também 39 % dos exames histopatológicos benignos ocorreram neste subgrupo. Alguns autores

descreveram, neste subgrupo, a progressão à NIA III em 76 % e a regressão à NIA I em apenas 22 %, coincidente com o aumento da longevidade da população (PALEFSKY et al., 1998; PALEFSKY et al., 2005; KLENCKE; PALEFSKY, 2003).

Os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺ foram determinados nos 70 (100%) pacientes HIV positivos. A média foi de 398,13 x 10⁶ células/litro (l) (29/70) e de 362,13 x 10⁶ células/l no grupo HAART (41/70) inferior a média dos pacientes estudados por Manzione et al. (2003) e Abramowitz et al.(2007). Dispostas as concentrações (x 10⁶ células/l) em faixas de 0-200, 201 a 500 e maior que 500, as diferenças observadas entre os grupos foram discretas, não havendo significância na análise de variância (ANOVA) (Gráfico 1).

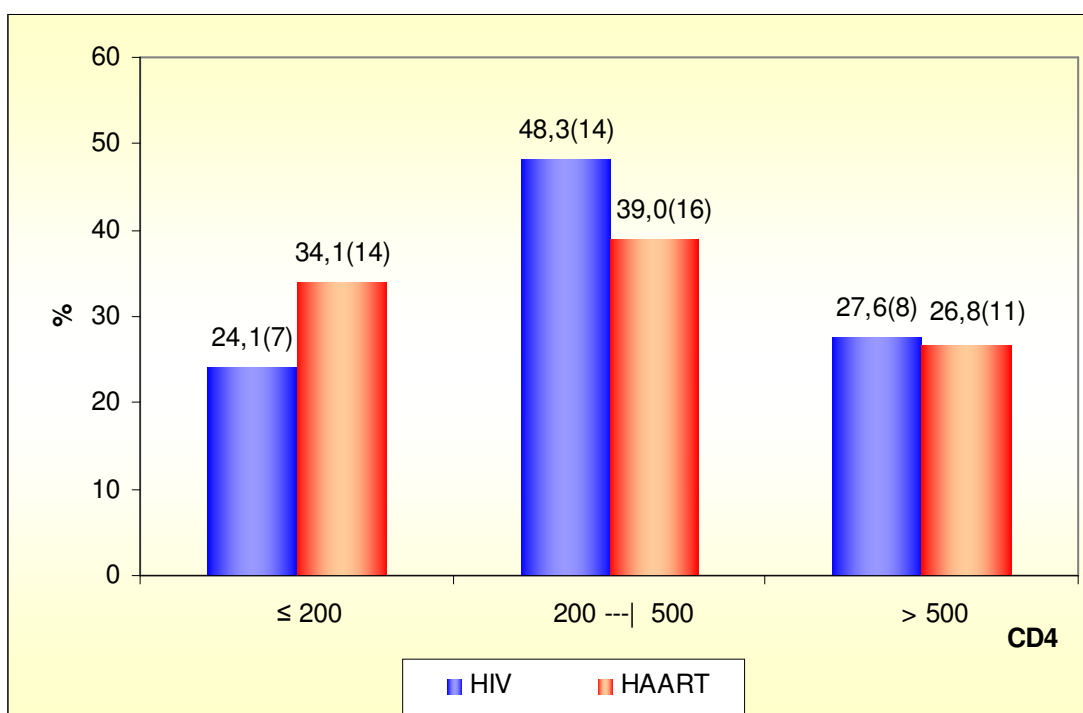


Gráfico 1 - Distribuição segundo os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺ nos pacientes HIV/HAART atendidos na FMTAM.

Legenda: HIV: vírus da imunodeficiência humana, HAART: *High activity antiretroviral therapy* (terapia anti-retroviral de alta potência). Valores entre parênteses correspondem ao número de pacientes.

As taxas de NIA em relação aos níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺ no grupo HIV positivo foram avaliadas. 44/70 (62,85%) tinham NIA e destes, 31/44 (70,45%) apresentavam níveis dessas células superiores a 200 x 10⁶ células/l, o que

diferia pouco do grupo sem NIA com 18/26 (69,23%) das médias celulares na mesma faixa (tabela 16). Não houve, portanto correlação entre os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺ e a ocorrência de NIA nos pacientes independente do uso da HAART (tabelas 15 e 16).

Tabela 15

Ocorrência de NIA segundo os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺ dos pacientes HIV positivos atendidos na FMTAM.

Linfócitos T CD4 ⁺ (x 10 ⁶ células/l)	Histopatológico				TOTAL	P valor
	NIA		NORMAL			
	N	%	N	%		
< 201	(13)	61,9	8	38,1	21	0,914
> 200	(31)	63,3	18	36,7	49	
Total	(44)		26		70	

Legenda: NIA: neoplasia intra-epitelial anal, HIV: vírus da imunodeficiência humana, HAART: terapia anti-retroviral de alta potência.

Tabela 16

Distribuição segundo os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺, quanto à ocorrência de NIA, nos grupos de pacientes HIV positivos atendidos na FMTAM.

Grupos	Linfócitos T CD4 ⁺ (x 10 ⁶ células/l)					p-valor*
	≤ 200		>200		Total	
	N	%	N	%		
HIV (+)/ Histopatológico anal NIA	(4)	21,1	15	78,9	19	0,459
HIV (+)/ Histopatológico anal normal	(3)	30,0	7	70,0	10	
Total	(7)	24,1	22	75,9	29	
						0,980**
HAART/ Histopatológico anal NIA	(9)	36,0	16	64,0	25	
HAART/ Histopatológico anal Normal	(5)	31,3	11	68,7	16	
Total	(14)	34,1	27	65,9	41	

Legenda: NIA: Neoplasia intra-epitelial anal, HAART: *High activity antiretroviral therapy* (terapia anti-retroviral de alta potência).

* teste exato de Fisher; ** Qui-quadrado com correção de Yates.

Palefsky et al. (1998a) descreveram numa *coorte* que níveis de linfócitos T CD4⁺ inferiores a 200 x 10⁶ células/l foram significativos para o desfecho NIA III. Apesar do estudo ter sido conduzido na era pré-HAART, seus resultados foram recentemente reafirmados (PALEFSKY; HOLLY, 2003). Abramowitz et al. (2007) encontraram níveis de linfócitos T CD4⁺ inferiores a 200 x 10⁶ células/l associados a condilomas, não a NIA, e Ching-Hong et al. (2005) também discordam da influência dessas células.

Analizou-se também a ocorrência do HPV geral nos pacientes HIV positivos, quanto aos níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺. Dos 70 constituintes do grupo, 43 (61,4%) apresentaram detecção do HPV por um dos métodos descritos, destes 32,6% apresentaram níveis dessas células inferiores a 200 (x 10⁶ células/l), 41,9% entre 201 e 500 e 25,6% >500 x 10⁶ células/l. As diferenças não foram significativas em relação ao grupo que não apresentou HPV (p= 0,832) (tabela 17).

Tabela 17

Ocorrência de HPV geral segundo os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺ nos pacientes HIV positivos atendidos na FMTAM.

Linfócitos T CD4 ⁺ (x 10 ⁶ células/l)	HPV geral				TOTAL	p-valor
	Positivo		Negativo			
	N	%	N	%		
< 200	(14)	32,6	7	25,9	21	0,832
201-500	(18)	41,9	12	44,4	30	
> 500	(11)	25,6	8	29,6	19	
Total	(43)	100	27	100	70	

Legenda: HPV: Papilomavírus humano.

* teste Qui-quadrado de Pearson.

Os resultados encontram respaldo nos estudos de Ching-Hong et al. (2005), que discordam da influência na era pós-HAART, dos níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺ sobre

a ocorrência de NIA e HPV nestes pacientes, sendo apenas a infecção anal simples ou múltipla pelo HPV significativa para o desfecho NIA no grupo.

Quanto à carga viral do HIV-1, a média apresentada pelo subgrupo sem HAART (29/70) foi de 56.585,7 cópias virais/mm e de 51.738,8 no HAART (41/70). Não houve diferença significativa na análise de variância. Essas taxas são muito superiores a média de 5.000 cópias dos pacientes HIV positivos com condilomas anal descritas por Manzione et al. (2003). Transformada a carga viral em log, os resultados foram agrupados em: zero, 1-30.000 cópias/mm e > 30.000 cópias/mm e então refez-se a análise de porcentagens nos subgrupos HIV e HAART, não havendo ainda assim diferenças ao nível de significância de 5% (Gráfico 2).

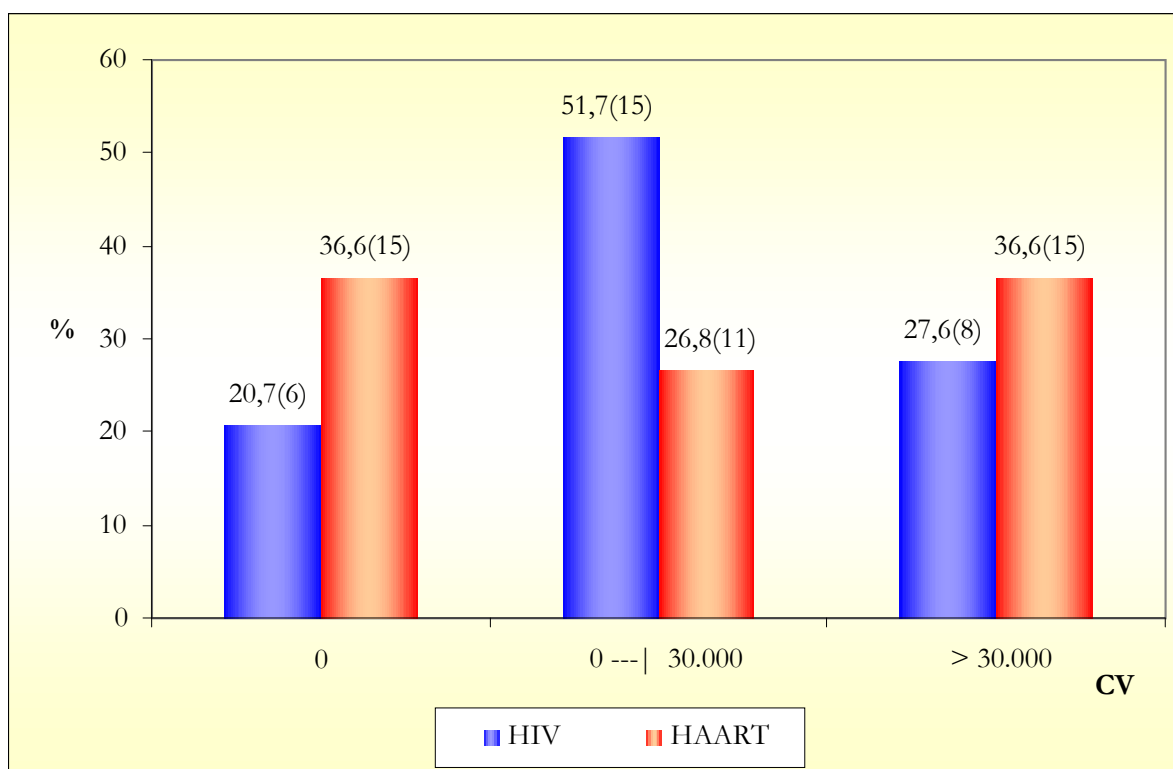


Gráfico 2 - Distribuição da carga viral do HIV-1 (cópias/mm³) nos subgrupos de pacientes HIV/HAART atendidos na FMTAM.

Legenda: HIV: vírus da imunodeficiência humana

HAART: *High activity antiretroviral therapy* (terapia anti-retroviral de alta potência).

Os valores entre parênteses correspondem ao número de pacientes.

Na análise da ocorrência de NIA quanto à carga viral do HIV, dos 44/70 (62,9 %) pacientes HIV positivos com NIA, 15/44 (34,1 %) apresentaram carga viral superior a 30.000,

já dentre os HIV positivos com exames histopatológicos normais, 18/26 (69,2 %) tinham carga viral inferior a 30.000 cópias. A diferença apresentada não foi significativa (tabela 18).

Os achados são discordantes de Sobhany et al (2004) que demonstraram elevação significativa de NIA III nos pacientes com carga viral elevada, sem relação com o uso da HAART.

Palefsky et al. (1998a, 1998b, 1998c) na era pré-HAART, ao estudarem o risco de câncer anal em HIV positivos HSH e determinarem os níveis de linfócitos T CD4⁺, apontaram a imunossupressão e a presença do HPV como principais fatores de risco para o câncer. Em 2003, os autores reafirmaram que a força da relação descrita estaria mais relacionada aos níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺ do que a carga viral do HIV, refletindo uma maior importância da disfunção imune no desfecho (PALEFSKY; HOLLY, 2003).

Tabela 18

Distribuição, segundo a carga viral (cópias/mm³) do HIV-1, dos laudos histopatológicos nos subgrupos de pacientes HIV positivos atendidos na FMTAM.

Grupos	Carga viral						Total
	0		0 --- 30.000		> 30.000		
	N	%	N	%	N	%	
HIV (+)/ Histopatológico anal normal	(2)	20,0	6	60,0	2	20,0	10
HIV (+)/ Histopatológico anal Ca	(4)	21,1	9	47,4	6	31,6	19
HAART/ Histopatológico anal Normal	(8)	50,0	2	12,5	6	37,5	16
HAART/ Histopatológico anal Ca	(7)	28,0	9	36,0	9	36,0	25
Total	(21)	30,0	26	37,1	23	32,9	70

Legenda: HAART: *High activity antiretroviral therapy* (terapia anti-retroviral de alta potência).

Não foi possível aplicar a estatística de teste do qui-quadrado.

Na análise de correlação entre as DC CD1a⁺ e o log da carga viral do HIV-1 (Gráfico 3), não houve correlação significativa. Os dados vão de encontro com os estudos de Sobhany et al. (2002) que descreveram OR de 4,9 quando o número de cópias virais era superior a 30.000/mm. Os mesmos achados se repetiram com as demais subpopulações avaliadas de DC: DC-SIGN⁺, CD1a⁺/ DC-SIGN⁺ e CD1a⁺ + DC-SIGN⁺.

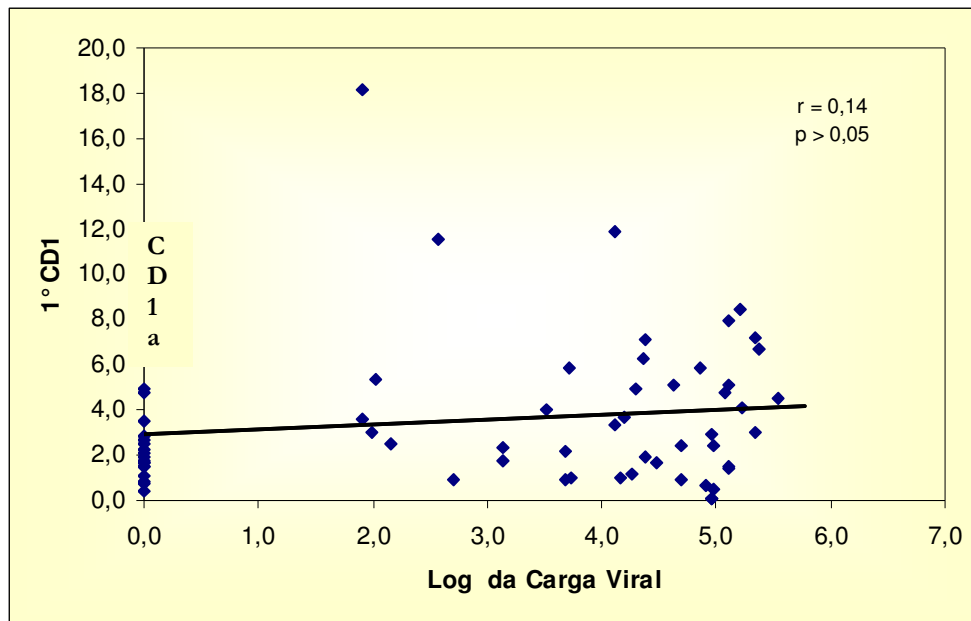


Gráfico 3 - Distribuição da carga viral (Log) em relação à mediana de DC CD1a⁺ nos pacientes atendidos na FMTAM.

Para análise da imunidade celular na mucosa anorretal, quantificou-se os volumes relativos das DC CD1a⁺ e das DC DC-SIGN⁺, bem como a razão DC CD1a⁺/DC DC-SIGN⁺ e o somatório dessas DC CD1a⁺ + DC DC-SIGN⁺, buscando possíveis alterações nas relações entre estas subpopulações celulares nos grupos estudados (Gráfico 4).

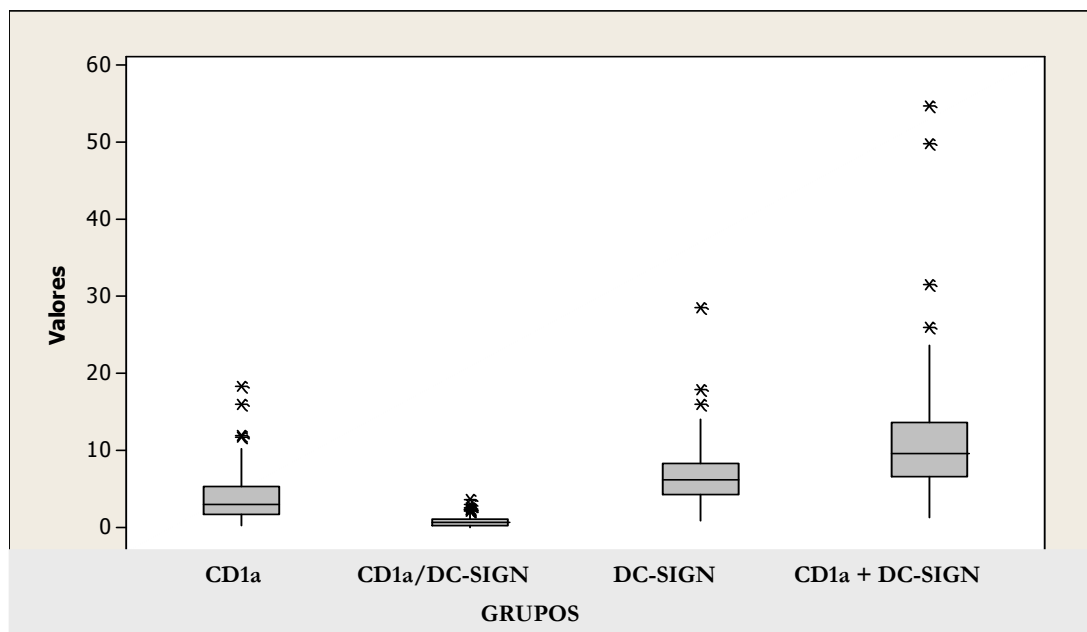


Gráfico 4 – Mediana do volume relativo das DC CD1a⁺, DC DC-SIGN⁺, DC CD1a⁺/DC-SIGN⁺ e DC CD1a⁺ + DC-SIGN⁺ dos pacientes atendidos na FMTAM.

A análise das DC CD1a⁺ foi possível em 110/125 pacientes. As DC CD1a⁺ apresentaram mediana de 2,87 no grupo HIV negativo considerado controle, 2,38 no subgrupo HIV positivo e 2,87 no HAART (tabela 19). Ocorreu diminuição discreta da mediana no grupo HIV negativo e manutenção no subgrupo HAART sem diferença significativa à análise estatística ao nível de 5%. Os achados, embora não significantes, foram coincidentes com os estudos de Sobhani et al. (2002) que descreveram OR de 6 para a presença do HIV como fator de diminuição das LC CD1a⁺. Nadal et al. (2006a) também encontraram diminuição significativa das LC neste grupo de pacientes.

Tabela 19

Distribuição das subpopulações de DC segundo os grupos e subgrupos de pacientes atendidos na FMTAM

Variáveis	Grupos			Total	p-valor*
	HIV positivo	HIV negativo	HAART		
CD1a⁺					0,183**
Mediana	2,34	2,87	2,87		
N	(25)	(45)	(40)		
DC-SIGN⁺					0,084**
Mediana	4,04	6,25	7,53		
N	(25)	(51)	(40)		
CD1a⁺/DC-SIGN⁺					0,349**
Mediana	0,38	0,49	0,49		
N	(26)	(43)	(40)		
CD1a⁺ + DC-SIGN⁺					0,077**
Mediana	7,35	9,15	10,98		
N	(25)	(44)	(40)		

Legenda: DC CD1a⁺: Célula dendrítica da família do grupo I das proteínas CD1. Glicoproteína expressa na superfície de células apresentadoras de antígenos, DC DC-SIGN⁺: Célula dendrítica ICAM-3 grabbing, nonintegrin.

p-valor em **negrito itálico** indica diferença estatística ao nível de 5%.

* Teste do qui-quadrado de Pearson; ** Teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Não houve, diferença significativa entre as médias de idade (anos) e mediana das DC CD1a⁺ (Gráfico 5) e DC DC-SIGN⁺ nos dois grupos estudados, o que discorda dos estudos de Uchimura et al.

(2004) que descreveram a diminuição das DC CD1a⁺, células de Langerhans, na mucosa cervical a partir dos 30 anos de idade.

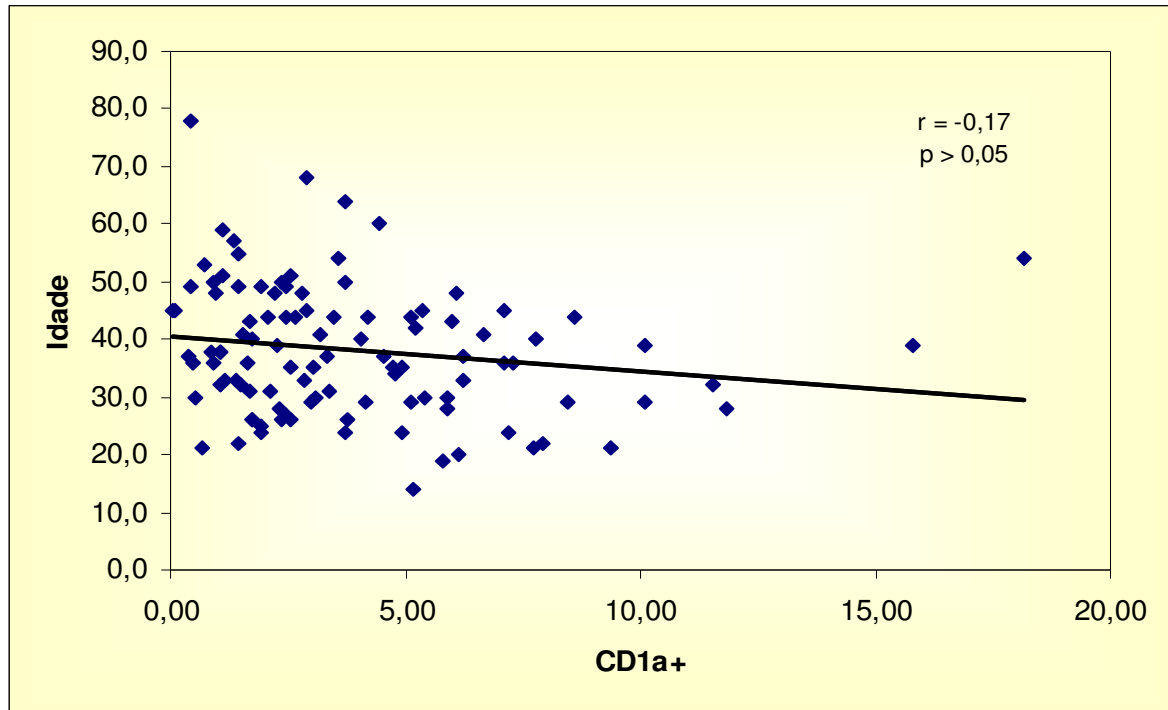


Gráfico 5. Distribuição etária em relação a mediana das DC CD1a⁺ dentre os grupos de pacientes atendidos na FMTAM.

Buscou-se avaliar o volume relativo dessas subpopulações de DC também em relação aos exames histopatológicos. Obteve-se uma mediana de 2,46 para o grupo com laudo normal ou inflamatório benigno denominado controle. No grupo NIA I a mediana das DC CD1a⁺ foi de 3,58 e de 2,54 para NIA III e câncer (tabela 20). A presente análise, apesar de sem significância estatística não compartilhou dos achados de Uchimura et al. (2004) que descreveram a diminuição dessas células por alteração na migração das DC para os tecidos como relacionadas ao agravamento da NIA e concorda com os resultados demonstrados por Sobhany et al. (2002; 2004) em que os autores descrevem a diminuição das DC CD1a⁺, com tendência a chegar a zero, nos pacientes com NIA III e câncer.

Tabela 20

Distribuição, segundo exame histopatológico, da mediana das DC CD1a⁺ e DC-SIGN⁺ dos pacientes atendidos na FMTAM.

Variáveis	Histopatológico anal			p-valor*
	Normal (controle)	NIA I	NIA III	
DC CD1a⁺				0,137**
Média ± DP	3,38 ± 2,66	4,80 ± 3,97	2,98 ± 1,55	
Mediana	2,46	3,58	2,54	
N	(40)	(44)	(13)	
DC DC-SIGN⁺				0,925**
Média ± DP	6,86 ± 4,48	6,56 ± 2,93	6,56 ± 3,63	
Mediana	6,20	6,28	5,87	
N	(46)	(45)	(13)	
DC CD1a⁺/ DC-SIGN⁺				0,220**
Média ± DP	0,58 ± 0,52	0,87 ± 0,78	0,75 ± 0,77	
Mediana	0,40	0,63	0,49	
N	(41)	(42)	(13)	
DC CD1a⁺ + DC-SIGN⁺				0,560**
Média ± DP	10,12 ± 5,64	11,18 ± 5,82	9,54 ± 3,36	
Mediana	8,64	10,37	9,15	
N	(40)	(42)	(13)	

Legenda: DC CD1a⁺: Célula dendrítica da família do grupo I das proteínas CD1. Glicoproteína expressa na superfície de células apresentadoras de antígenos, DC DC-SIGN⁺: Célula dendrítica ICAM-3 grabbing, nonintegrin, NIA I: Neoplasia intra-epitelial anal leve a moderada, NIA III: Neoplasia intra-epitelial anal severa.

* Teste do qui-quadrado de Pearson; * Teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Nadal et al. (2006a) encontraram diferença significativa de DC CD1a⁺ (25 a 50% inferior ao grupo controle) nos pacientes HIV positivos com câncer anal sem relação com o prognóstico, já que os pacientes com pior prognóstico apresentaram 25-75% mais DC CD1a⁺ em relação a grupo com melhor prognóstico, apoiando os autores que defendem déficit de ativação e não numérico nestas células, pela produção de TGF-beta-1 pelos tumores (WEBER et al., 2005).

Avaliou-se por fim a mediana das subpopulações de DC nos grupos HIV positivos e

negativos, quanto ao exame histopatológico. Não se observou significância entre os grupos, porém cabe a ressaltar que em todas as subpopulações de DC, exceto nas CD1a⁺/DC-SIGN⁺, houve aumento da mediana no grupo sob HAART, podendo sinalizar possível reestruturação da imunidade celular na mucosa anal neste grupo de pacientes (tabela 21).

Tabela 21

Distribuição da mediana das subpopulações de DC CD1a⁺ e DC DC-SIGN⁺ nos grupos de pacientes HIV positivos e negativos quanto à ocorrência de NIA.

Variáveis	N	Média	DP	Mediana
DC CD1a⁺/ p-valor	0,191*			
HIV (-)/ Histopatológico anal normal	(27)	3,80	2,87	2,87
HIV (+)/ Histopatológico anal de NIA	(15)	3,11	1,89	2,39 ↓
HAART/ Histopatológico anal de NIA	(25)	4,43	4,21	3,31 ↑
DC DC-SIGN⁺/ p-valor	0,382*			
HIV (-)/ Histopatológico anal normal	(31)	6,61	3,00	6,25
HIV (+)/ Histopatológico anal de NIA	(14)	5,65	3,65	4,48 ↓
HAART/ Histopatológico anal de NIA	(24)	7,17	3,04	7,83 ↑
DC CD1a⁺/ DC-SIGN⁺// p-valor	0,274*			
HIV (-)/ Histopatológico anal normal	(31)	0,69	0,61	0,49
HIV (+)/ Histopatológico anal de NIA	(15)	0,85	0,85	0,57 -
HAART/ Histopatológico anal de NIA	(24)	0,70	0,66	0,49 -
DC CD1a⁺ + DC-SIGN⁺// p-valor	0,267*			
HIV (-)/ Histopatológico anal normal	(31)	10,27	4,17	9,15
HIV (+)/ Histopatológico anal de NIA	(15)	8,39	3,79	8,51 ↓
HAART/ Histopatológico anal de NIA	(24)	11,59	6,16	11,75 ↑

Legenda: DC CD1a⁺: Célula dendrítica da família do grupo I das proteínas CD1. Glicoproteína expressa na superfície de células apresentadoras de antígenos, DC DC-SIGN⁺: Célula dendrítica ICAM-3 grabbing, nonintegrin, HIV: vírus da imunodeficiência humana, HAART: *High activity antiretroviral therapy* (terapia anti-retroviral de alta potência). ↓: diminuição da mediana em relação ao grupo controle, ↑: elevação da mediana em relação ao grupo controle (HIV(-)/ histopatológico anal normal), DP: desvio-padrão.

* Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

A análise das DC DC-SIGN⁺ foi feita em 115/125 pacientes. A mediana encontrada foi de 6,25 para o grupo HIV negativo (controle), 4,04 para os HIV positivos sem HAART e de 7,53 para o grupo em uso de HAART (tabela 20). Turville et al. (2002) encontraram, na derme saudável, uma média de DC DC-SIGN⁺ de $239 \pm 113 \text{ mm}^2$. Não foi encontrado na

base de dados Pubmed nenhum outro trabalho que tenha utilizado a quantificação das DC DC-SIGN⁺ no trato anogenital, visto que os mesmos em sua maioria são de caracterização celular e não de quantificação, impossibilitando a extensão da comparação.

No grupo com NIA I, a mediana de DC-DC-SIGN⁺ foi de 6,28 e de 5,87 nos pacientes com NIA III e câncer, $p: 0,925$ (tabela 21)

Foi possível a determinação da razão DC CD1a⁺/DC-SIGN⁺ em 105/125 pacientes. Em relação aos exames histopatológicos, a razão CD1a⁺/DC-SIGN⁺ foi de 0,40 para o grupo controle, de 0,63 para o grupo com NIA I e de 0,49 nos pacientes com NIA III e câncer, sem diferença significativa entre os grupos.

Quanto a presença da infecção pelo HIV, a mediana de CD1a⁺/DC-SIGN⁺ foi de 0,69 entre os pacientes HIV negativos controle, 0,43 para todos os pacientes HIV positivos, 0,38 para o grupo HIV positivo e 0,49 para o HAART ($p: 0,220$).

No somatório das subpopulações de DC estudadas, DC CD1a⁺ + DC-SIGN⁺, encontrou-se uma mediana de 8,64 no grupo controle e de 10,37 e 9,15 para os subgrupos NIA I e NIA III respectivamente. Quanto à presença de infecção pelo HIV, encontramos as seguintes medianas entre os grupos HIV negativos, HIV positivos e HAART: 8,64; 7,35 e 10,98. As diferenças não foram significativas (tabela 20).

Sobhani et al. (2002) descreveram como significativas o número de LC CD1a⁺/mm dos pacientes HIV positivos em relação aos HIV negativos com condiloma (mediana de 30 cél/mm) e de 15cél/mm no grupo HIV positivo e 17 cél/mm no grupo controle. Em nosso estudo apesar das diferenças encontradas na distribuição das DC, as DC CD1a⁺, na análise isolada não foi significativa. Porém nosso grupo controle foi composto por pacientes HIV negativos com exame histopatológico normal ou inflamatório benigno sem indícios de infecção pelo HPV diferente do estudo de Sobhani et al. (2002) à comparação e a diferença

significativa fez-se em relação ao grupo de HIV negativos com condiloma, o que hoje sabe-se elevar o número de DC em pacientes com sistema imune competente.

Com a finalidade de comparar os presentes dados com os estudo de Sobhani et al. (2002) buscou-se analisar a variação do volume relativo das subpopulações de DC, nos grupos, quanto à presença do condiloma anal ou perianal (tabela 22).

Tabela 22

Distribuição, segundo a presença de condiloma, da mediana das DC CD1a⁺ e DC DC-SIGN⁺ dos pacientes HIV positivos e negativos atendidos na FMTAM.

Grupos	Condiloma						p
	Sim			Não			
	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	
HIV (+)							
DC CD1a ⁺ (6/64)	4,40	1,89	4,84	3,47	3,28	2,42	0,503
DC DC-SIGN ⁺ (5/64)	8,38	3,64	9,51	6,70	4,52	6,00	0,422
DC CD1a ⁺ / DC-SIGN ⁺ (1/60)	0,55	0,22	0,55	0,66	0,66	0,38	0,608*
DC CD1a ⁺ +DC-SIGN ⁺ (5/64)	12,71	5,31	12,05	10,00	6,13	9,15	0,342
HIV (-)							
DC CD1a ⁺ (7/43)	6,67	4,93	5,43	3,91	2,61	3,24	0,148*
DC DC-SIGN ⁺ (7/49)	7,98	4,75	7,43	6,31	2,41	6,16	0,549*
DC CD1a ⁺ / DC-SIGN ⁺ (7/42)	1,01	0,62	0,99	0,78	0,74	0,50	0,433
DC CD1a ⁺ +DC-SIGN ⁺ (7/42)	14,65	5,74	14,77	10,02	3,67	8,63	0,009

Legenda: DC CD1a⁺: Célula dendrítica da família do grupo I das proteínas CD1. Glicoproteína expressa na superfície de células apresentadoras de antígenos, DC DC-SIGN⁺: Célula dendrítica ICAM-3 grabbing, nonintegrin.

Os valores entre parênteses correspondem ao número de amostras de pacientes com condiloma sob o número total de pacientes do grupo.

p-valor em negrito itálico indica diferença estatística ao nível de 5%.

* Teste t de Student; ** Teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

A análise revelou aumento da mediana em todas as variáveis de DC estudadas, porém o aumento foi significativo, p: 0,009, apenas na variável denominada “soma” (DC CD1a⁺ + DC DC-SIGN⁺) que apresentou mediana de 14,77 nos pacientes com condiloma e de 8,63 nos sem histórico de condilomas. O presente estudo concorda parcialmente com os trabalhos de Sobhani et al., (2002)

que analisaram isoladamente a população de DC CD1a⁺. Os dados demonstram a adequada resposta imune celular frente à invasão viral nos pacientes hígidos (tabela 22).

Na análise da variação das subpopulações de DC em relação ao resultado do PCR para o HPV, não observamos diferença significativa, devido ao pequeno número de amostras submetidas à análise (16/125) (tabela 12).

Na análise de correlação entre as subpopulações de DC quanto aos níveis de linfócitos T CD4⁺ nos 70 pacientes estudados, observamos diferença significativa na mediana dos valores relativos nas DC CD1a⁺ + DC-SIGN⁺ nos pacientes com NIA I com correlação negativa fraca ($r = -0,40$) (Gráfico 6), DC CD1a⁺ com correlação negativa moderada ($r = -0,66$) (Gráficos 6) e ainda nas DC DC-SIGN⁺ com correlação positiva forte ($r = 0,75$; $p = 0,01$) nos pacientes com NIA III (Gráfico 7).

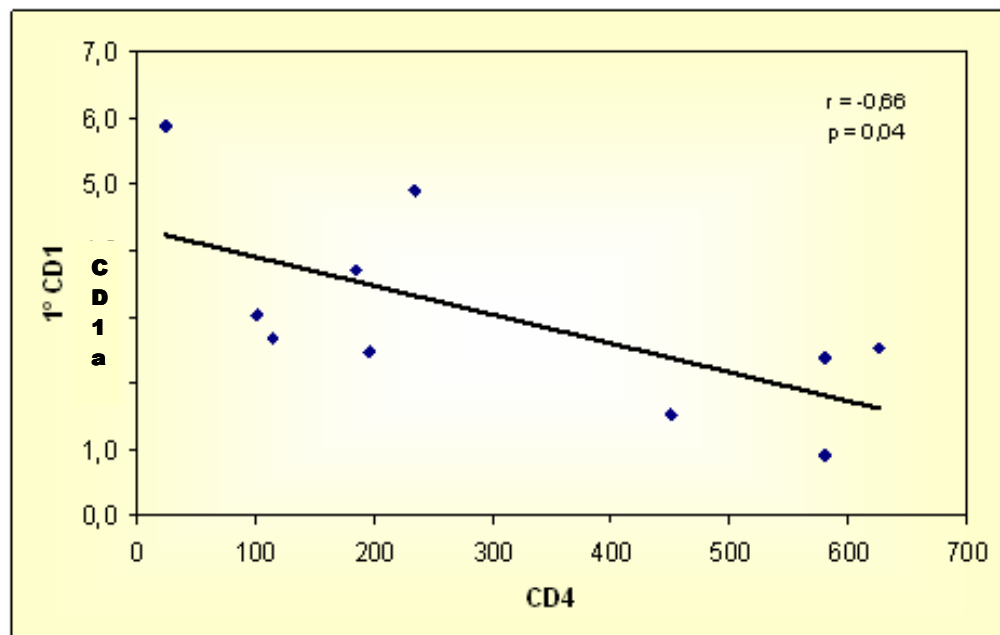


Gráfico 6 - Distribuição segundo os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺ em relação à mediana das DC CD1a⁺ dos pacientes HIV positivos portadores de NIA I atendidos na FMTAM.

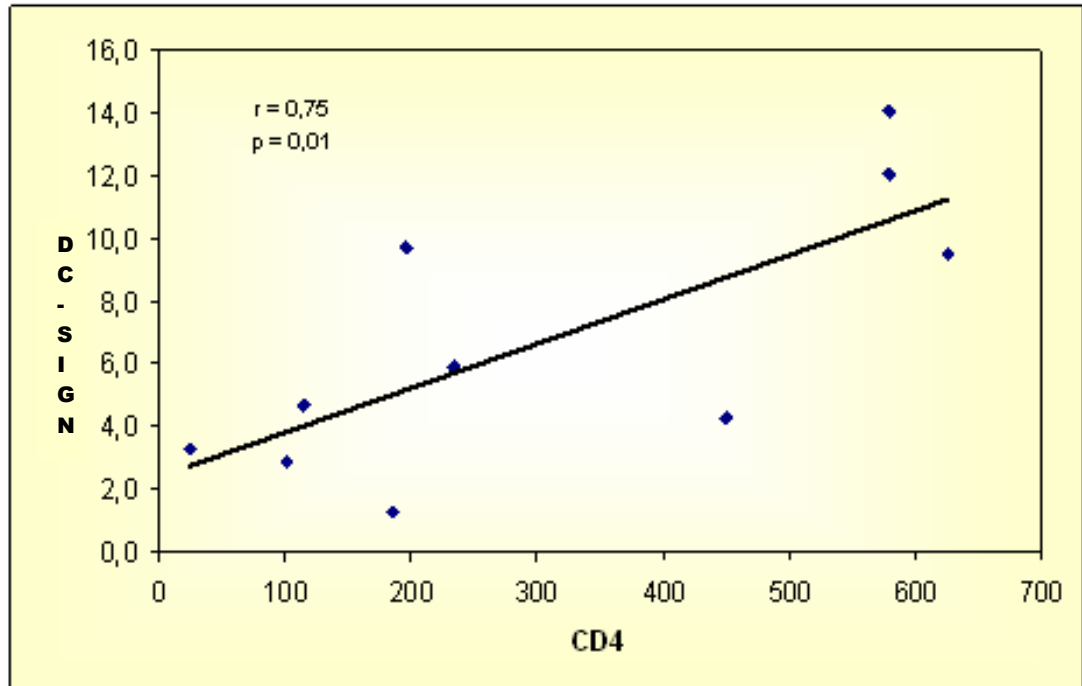


Gráfico 7 - Distribuição segundo os níveis sanguíneos dos linfócitos T CD4⁺ em relação à mediana das DC DC-SIGN⁺ dos pacientes HIV positivos NIA III atendidos na FMTAM

Na avaliação das medianas das DC nas subpopulações estudadas observou-se em todas as análises, exceto na variável razão (DC CD1a⁺ / DC-SIGN⁺) uma diminuição não significativa na mediana da população celular dos pacientes HIV positivos com NIA, concordante com os estudos de Sobhany et al. (2002; 2004) e aumento nas medianas do grupo HAART com NIA.

Vislumbrou-se que o fato acima poderia refletir um possível efeito da HAART sobre a recuperação destas subpopulações constituintes da imunidade inata, o que explicaria a correlação positiva forte com os níveis de linfócitos T CD4⁺ nos pacientes com NIA severa, e pelo fato de não ter-se encontrado, no subgrupo HAART, o agravamento significativo esperado na prevalência e gravidade de NIA (25/44 ou 56,8 %) em comparação com o grupo não submetido à terapia específica (19/44 ou 43,2 %) (tabela 23). Esta hipótese encontra respaldo nos estudos de Miyagi et al., (2001) que descreveram o aumento de infiltração de

LC no tecido pulmonar neoplásico infectado pelo HPV como relacionado a um melhor prognóstico desses pacientes.

Apesar de nos pacientes sob HAART a prevalência de NIA leve ter sido um pouco superior a dos pacientes HIV positivos sem HAART, 22/41 (53,7 %) e 12/29 (41,4 %) respectivamente, a NIA severa ocorreu em 7/29 (24,1 %) dos HIV positivos e em apenas 7,3 % do grupo HAART (tabela 23), contrariando a literatura que apóia a não reestruturação da resposta imune celular em pacientes sob HAART (PALLEFSKY; HOLLY, 2003), sinalizando a HAART como fator de risco para o desfecho da NIA III/câncer (ABRAMOWITZ et al., 2007).

Tabela 23

Ocorrência de NIA nos laudos histopatológicos segundo os subgrupos de pacientes HIV positivos atendidos na FMTAM.

Histopatológico	HIV positivo		HAART		p-valor*
	N	%	N	%	
Normal	(10)	34,5	16	39,0	0,0248
NIA I	(12)	41,4	22	53,7	
NIA III	(7)	24,1	3	7,3	
TOTAL	(29)	100,0	41	100,0	

Legenda: NIA I: neoplasia intra-epitelial leve a moderada, NIA III: neoplasia intra-epitelial severa).
Nível de significância de 5%. Teste Qui-quadrado de Pearson.

A carcinogênese anal envolve fatores ambientais, virais e genéticos. Dentre os fatores envolvidos, este estudo encontrou evidências de associação entre o gênero, o estado civil, a opção sexual, o número de parceiros no último ano e nos últimos 05 anos, o tabagismo, o histórico de DST, a presença de NIA, a soma dos valores relativos das DC CD1a⁺ + DC DC-SIGN⁺ no grupo HIV negativo em pacientes com condiloma, e na relação quanto os níveis sanguíneos dos linfócitos T

CD4⁺ nos pacientes HIV positivos com NIA I, e em relação às DC CD1a⁺ e DC DC-SIGN⁺ nos pacientes com NIA III.

As variáveis significativas observadas em ambos os grupos, foram dispostas num modelo de regressão logística incondicional. Nesta análise, confirmaram-se como fatores de risco independentes o histórico de DST (DST prévia) e a ocorrência de NIA (tabela 24).

Tabela 24

Distribuição, segundo a regressão logística, dos fatores de riscos analisados nos pacientes atendidos na FMTAM.

Fatores de risco	OR	IC95%	Coefficiente regressão	p-valor
Adeptos do sexo anal receptivo (AR)	1,13	0,14 – 9,24	0,12	0,912
Estado civil	1,20	0,27 – 5,34	0,18	0,812
DST prévia (histórico)	8,66	2,05 – 36,62	2,16	0,003
HPV geral	0,23	0,05 – 1,18	-1,46	0,079
Idade	0,95	0,88 – 1,02	-0,05	0,142
Início da atividade sexual	0,91	0,19 – 4,41	-0,09	0,909
Nº de parceiros nos últimos 5 anos	2,94	0,54 – 16,00	1,08	0,212
Nº de parceiros no último ano	0,74	0,13 – 4,16	-0,30	0,732
Opção sexual	1,43	0,25 – 8,27	0,36	0,689
Patologia anorretal	0,59	0,15 – 2,31	-0,52	0,452
Ocorrência de NIA	7,31	1,39 – 38,75	1,99	0,020
Gênero	4,25	0,69 – 26,04	1,45	0,118
Tabagismo	1,68	0,42 – 6,75	0,52	0,459
DC CD1a ⁺	0,48	0,06 – 3,41	-0,74	0,462
DC DC-SING ⁺	1,33	0,20 – 8,55	0,28	0,766
DC CD1a ⁺ / DC DC-SING ⁺	0,55	0,11 – 2,84	-0,59	0,476
DC CD1a ⁺ + DC DC-SING ⁺	0,86	0,10 – 7,39	-0,14	0,895

Modelo de regressão logística incondicional.

Legenda: DST: doenças sexualmente transmissíveis, HPV: Papiloma vírus humano, NIA: neoplasia intra-epitelial anal, DC CD1a⁺: células dendríticas CD1a⁺, DC DC-SING⁺: células dendríticas DC-SIGN⁺. p-valor em negrito itálico indica associação estatisticamente significativa ao nível de 5%.

São necessários novos estudos envolvendo o seguimento clínico da população identificada sob risco, buscando observar a história natural da NIA para que os fatores de riscos aqui ressaltados possam se solidificar.

O desafio relativo à população de DC persiste em estabelecer seu valor como um possível marcador de risco para a NIA e o câncer por desempenharem importante papel na carcinogênese e pelo fácil acesso anatômico para o monitoramento dos grupos sob maior risco do seu desenvolvimento. Ainda é inexpressivo o número de estudos nacionais abordando o papel das DC e o risco de câncer anal nos pacientes HIV positivos, e os dados da comunidade científica internacional são díspares para embasar decisões sobre o valor prognóstico dessas células na carcinogênese anal.

6. CONCLUSÕES

- 6.1** A prevalência de neoplasia intra-epitelial anal (NIA) nos dois grupos foi de 52,8% com 77,3% de NIA leve a moderada e 22,7% de NIA severa.
- 6.2** A prevalência de NIA diferiu significativamente entre os grupos HIV negativo (33,3%) e HIV positivos (66,7%)
- 6.3** Pacientes HIV positivos e HAART com DST prévia apresentam prevalência de NIA significativamente superior ao grupo HIV negativo, com taxas de 63,2%, 68,0% e 13,6% respectivamente.
- 6.4** A prevalência de NIA I e NIA III foi significativa superior entre os adeptos do sexo anal receptivo com taxas de 80,4% e 73,3% respectivamente.
- 6.5** Não houve correlação entre a carga viral periférica do HIV-1, a ocorrência de NIA e a mediana das DC CD1a⁺ e DC DC-SIGN⁺, independente do uso da HAART.
- 6.6** Houve elevação da mediana das subpopulações de DC CD1a⁺ e DC-SIGN⁺ nos pacientes em uso de HAART em relação ao grupo HIV positivo, refletindo uma possível recuperação da imunidade celular visto a discreta prevalência de NIA III neste grupo (7,3%).
- 6.7** Em pacientes HIV negativos hígidos, a presença do condiloma eleva a mediana das células dendríticas CD1a⁺ e DC-SIGN⁺ do canal anal.
- 6.8** Os níveis séricos dos linfócitos T CD4⁺ apresentaram correlação negativa fraca com o volume relativo das células dendríticas (CD1a⁺ + DC-SIGN⁺) do canal anal de pacientes HIV positivos portadores de NIA I.
- 6.9** Os níveis séricos dos linfócitos T CD4⁺ apresentaram correlação negativa em grau moderado com o volume relativo das células dendríticas CD1a⁺ do canal anal de pacientes

com neoplasia intra-epitelial anal I

- 6.10** Os níveis séricos dos linfócitos T CD4⁺ apresentaram correlação forte positiva com o volume relativo das células dendríticas DC-SIGN⁺ do canal anal de pacientes HIV positivos portadores de NIA III.
- 6.11** Pacientes HIV positivos apresentam risco elevado para o desenvolvimento de neoplasia intra-epitelial anal, em seus diversos níveis de severidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. Imunidade contra tumores. In: _____. **Imunologia celular e molecular**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005a.

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. Imunidade Inata. In: _____. **Imunologia celular e molecular**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005b.

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. Mecanismos efetores da imunidade mediada por células. In: _____. **Imunologia celular e molecular**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005c.

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. Processamento de antígenos e apresentação aos linfócitos T. In: _____. **Imunologia celular e molecular**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005d.

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**. V.21, p.1457-65, 2007.

ALTSCHUL, S.F.; MADDEN, T.L.; SHAFFER, A.A.; HANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D.J. Gapped blast and pfi-blast: a new generation of protein database search programs. **Nucleic acid res.** n.25, p.3389-402, 1997.

APGAR, B.S.; ZOSCHNICK L. THE 2001 BETHESDA SYSTEM THERMINOLOGY. **AMERICAN FAMILY PHYSICIAN**, V. 68, N. 10, P.1992-8, NOV. 2003.

ARDAVIN, C.; HOYO, G.M; MARTIN, P.; ANJUERE, F.; ARIAS, C.F.; MARÍN, A.R.; RUIZ, S.; PARRILAS, V.; HERNÁNDEZ, H. Origin and differentiation of dendritic cells. **Trends in immunology**. v.22, n.12, 2001.

AVI, S.; DAUMAS, A.G.P.G.; ARAUJO, J.R.; COSTA E SILVA, I.T.C.; GIMENEZ, F.S. Análise da prevalência da displasia anal em pacientes portadoras de neoplasia intra-epitelial cervical e o câncer. In: PBIC-CNPQ, 2005, Manaus. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2005.

BANDEIRA, C.B., LIMBERGER, L.F., DAMIANI, P.A., ROSA, M., FERRAZ, R., CAMPO, L.S. Manejo das lesões suspeitas de neoplasia cervical. **Revista Técnico-científica do grupo hospitalar Conceição**. v.14, n.1, 2001.

BAUER, H.M.; MANO, M.M. PCR Detection of genital human papillomavirus. **Application-viral pathogens**, p.407-13, 1998.

BD Pharmigen- protocolo de recuperação de antígenos(zinco). Disponível em: <http://www.bdbiosciences.com/external_files/pm/doc/tds/ihc/live/web_enabled/76101E_551249.pdf>, acesso em 24 set 2007.

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.

BERQUÓ, E.S.; SOUZA, J.M.P.; GOTLIEB, S.L.D. **Bioestatística**. 1 ed. São Paulo: EPU, 1980.

BOSCH, F.X.; LORINCZ, A.; MUNOZ, N.; MEIJER, C.L.M.; SHAH, K.V. Review: The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. **J Clin Pathol**, v. 55, p. 244-65, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde/SVS - Coordenação Nacional DST e Aids. **Boletim epidemiológico aids**. Disponível em: <www.aids.gov.br/data/documents/BOLETIM2006internet.PDF>. Acesso em 04 ago.2007b.

BRASIL. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/main.asp?View>>, acesso em 15 nov 2007c

CASTELLSAGUÉ, X.; BOSCH, F.X.; MUNOZ, N. Review: Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. **Virus Research**, n. 89, p. 191-99, 2002.

Centers for Disease Control and Prevention-CDC. EPI-INFO versão 3.3.2 for Windows. Califórnia: 2005.

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. **JNCI**, v. 97, n.12, p.896-905, 2005.

CLARCK, M.A.; HARTLEY, A.; GEH, J. I. Cancer of the anal canal. **The Lancet Oncology**. v.5(3), p. 149-57, 2004.

COSTA E SILVA, IT, Ferreira, L.C.L. Lesões precursoras do câncer anal em receptores de transplantes renais acompanhados em Manaus (AM). Manaus: UFAM, 2006. Dissertação (Mestrado em Patologia Tropical), Universidade Federal do Amazonas, 2006.

CROWLEY-NOWICK, P.A.; ELLENBERG, J.H.; VERMUND, S.H.; DOUGLAS, S.D.; HOLLAND, C.A.; MOSCICKI, A.B. Cytokine profile in genital tract secretions from female adolescents: impact of human immunodeficiency virus, human papillomavirus, and other sexually transmitted pathogens. **J Infect Dis**. v.181, p.939-45, 2000.

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.

DELMAS, M.C.; LARSEN, C.; BENTHEM, V.P.; HAMERS, F.F.; BERGERON, C.; POVEDA, J.D. Cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women: Prevalence, incidence and regression. European Study Group on natural history of HIV infection in women. **AIDS**. v.14, p.1775-84. 2000.

DINIZ, F.F. **Anatomia Cirúrgica**. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

DOORBAR, J. The papillomavirus life cycle. **Journal of Clinical Virology**. vol. 32S, p. S7 – 15, 2005.

FANALES-BELASIO, E.; MORETTI, S.; NAPPI, F.; BARILLARI, G.; MICHELETTI, F.; CAFARO, A.; ENSOLI, B. Native HIV-1 Tat protein targets monocyte-derived dendritic cells and enhances their maturation, function and antigen-specific T cell responses. **J. Immunol**, v. 168, p. 197-206, 2002.

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

FRIEDMAN, H.B.; SAAH, A.J.; SHERMAN, M.E.; BUSSENIERS, A.E.; BLACKWELDER, W.C.; KASLOW, R.A. Human papillomaviruses, anal squamous intraepithelial lesions, and human immunodeficiency virus in a cohort of gay men. **J Infect Dis**. v.178, p. 45-52, 1998.

FUNDAÇÃO CENTRO DE ONCOLOGIA DO ESTADO DO AMAZONAS- FCECON. Incidência de tumores malignos. **Departamento de Estatística Médica**. In: informação diretamente coletada no setor, Manaus. 23 nov.2005.

FLEISS, J.L. Statistical Methods for rates and proportions. 2.ed. John Wiley & Sons, 1981.
GEIJTENBEEK, T.B.H.; KWON, D.S., TORENSMA, RUURD, T.; VLIET, S.J.V.; DUIJNHOFEN, G.C.F.V.; MIDDEL, J.; CORNELISSEN, I.L.M.H.A.; NOTTET, H.S.L.M. DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T. **cells**. v.100. p. 587-97, 2000.

GEIJTENBEEK, T.B.H.; KWON, D.S., TORENSMA, RUURD, T.; VLIET, S.J.V.; DUIJNHOFEN, G.C.F.V.; MIDDEL, J.; CORNELISSEN, I.L.M.H.A.; NOTTET, H.S.L.M. DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T. **cells**. v.100. p. 587-97, 2000.

GIMENEZ, F.S.; Costa e Silva, I.T.; Daumas, A.P.G.; Ferreira, L.C.L.; Araújo, J.R.; Talhari, S.; Rocha, R.P.; Atala, L.S., Avi, S.V. Prevalência de lesões precursoras do câncer anal em indivíduos HIV positivos atendidos na Fundação de Medicina Tropical do estado do Amazonas. In: PBIC-CNPQ, 2005. **Apresentação oral**. Manaus: Universidade Federal do Amazonas. 2005.

GOLDIE, S.J.; KUNTZ, K.M.; WEINSTEIN, M.C.; FREEDBERG, K.A.; WELTON, M.I.; PALEFSKY, J.M. The Clinical effectiveness and cost-effectiveness of screening for anal squamous intraepithelial lesion in homosexual and bisexual HIV-positive men. **JAMA**. v.281 (19), p. 1822-9. 1999.

GRANELLI-PIPERNO, A.; GOLEBIEWSKA, A.; TRUMPFHELLER, C.; SIEGAL, F.P.; STEINMAN, R. HIV-1-infected monocyte-derived dendritic cells do not undergo maturation but can elicit IL-10 production and T cell regulation. **PNAS**. v. 101(20), p. 7669-74, 2004.

GRANELLI-PIPERNO A, SHIMELIOVICH I, PACK M, TRUMPFHELLER C, STEINMAN RM. HIV-1 selectively infect a subset of nonmaturing BDCA 1-positive dendritic cells in human blood. **J. Immunol**. 176, 991-8, 2006.

HAWS, A.L.F.; HE, Q.; RABY, P.L.; VHANV, L.; GRADY, J.; HUGHES, T.K; STIFFER, K.; KONIG, R.; TYRUNG, S.K. Nested PCR with the pgMY09/11 and GP5+/6+ primer sets. Improves detection of HPV DNA in cervical samples. **Journal of Virological Methods**. v.122, p.87-93, 2004.

HOLLY, E.A.; RALSTON, M.L.; DARRAGH, T.M.; GREENBLATT, R.M.; JAY, N. PALEFSKY, J.M. Prevalence and risk factors for anal squamous intraepithelial lesions in women. **JNCI**. v. 93, n.11, p. 843-9, 2001.

HOWARD, C.V.; REED, M.G. Three-dimensional measurements in microscopy. In:_____. **Unbiased stereology**. 2. ed. Berlin: Springer Verlag & Bios Scientific Publishers, 1998.

HU, J.; GARDNER, M.B.; MILLER, C.J. Simian immunodeficiency virus rapidly penetrates the cervicovaginal mucosa after intravaginal inoculation and infects intraepithelial dendritic cells. **J Virol**. V.74, p.6087-95, 2000.

INCA- Instituto Nacional do Câncer- **Estimativa 2006**. Disponível em: <www.inca.gov.br/estimativas2006/versãofinal.PDF>. Acesso em 31 out. 2007.

JAMESON, B.; BARIBAUD, F.; POHLMANN,S.; GHAVIMI, D.; MORTARI, F.; DOMS, R.W.; IWASAKI, A. Expression of DC-SIGN by dendritic cells of intestinal and genital mucosae in humans and Rhesus macaques. **Journal of Virology**. v.76, n.4, p.1866-75, 2002.

KAWAMURA, T., GULDEN, F.O.; SUGAYA, M.; McNAMARA, D.T.; BORRIS, D.L.; LEDERMAN, M.M.; ORENSTEIN, J.M.; ZIMMERMAN, P.A.; BLAUVELT, A. R5 HIV productively infects Langerhans cells, and infection levels are regulated by compound CCR5 polymorphisms. **PNAS**. v.100, n.14, p.8401-06, 2003.

KAWAMURA, T., BRUCE, E.S., ABRAHA, A.; SUGAYA, M.; HARTLEY, O.; OFFORD, R.E.; ARTS, E.J.; ZIMMERMAN, P.A.; BLAUVELT, A. PSC-RANTES blocks R5 human immunodeficiency virus infection of Langerhans cells isolated from individuals with a variety of CCR5 diplotypes. **Journal of virology**. v.78, n.14, p.7602-09, 2004.

IZMAIOLOVA, E.; FREDERIC, M.; BERTLEY, N.; HUANG, Q.; MAKORI, N.; MILLER, C.J.; YOUNG, R.A., ALDOVINI, A. HIV-1 Tat reprograms immature dendritic cells to express chemoattractants for activated T cells and macrophages. **Nature Medicine**, v.9 (2), p.191-7, 2003.

JAMESON, B.; BARIBAUD, F.; POHLMANN,S.; GHAVIMI, D.; MORTARI, F.; DOMS, R.W.; IWASAKI, A. Expression of DC-SIGN by dendritic cells of intestinal and genital mucosae in humans and Rhesus macaques. **Journal of Virology**. v.76, n.4, p.1866-75, 2002.

KAWAMURA, T., GULDEN, F.O.; SUGAYA, M.; McNAMARA, D.T.; BORRIS, D.L.; LEDERMAN, M.M.; ORENSTEIN, J.M.; ZIMMERMAN, P.A.; BLAUVELT, A. R5 HIV productively infects Langerhans cells, and infection levels are regulated by compound CCR5 polymorphisms. **PNAS**. v.100, n.14, p.8401-06, 2003.

KAWAMURA, T., BRUCE, E.S., ABRAHA, A.; SUGAYA, M.; HARTLEY, O.; OFFORD, R.E.; ARTS, E.J.; ZIMMERMAN, P.A.; BLAUVELT, A. PSC-RANTES blocks R5 human immunodeficiency virus infection of Langerhans cells isolated from individuals with a variety of CCR5 diplotypes. **Journal of virology**. v.78, n.14, p.7602-09, 2004.

KAWAMURA, T., KURTZ, S.E., BLAUVELT, A.; SHIMADA, S. The role of Langerhans cells in the sexual transmission of HIV. **Journal of Dermatological Science**. v.40, p.147-55, 2005.

KLAES, R.; BENNER, A.; FRIEDRICH, T.; RIDDER, R.; HERRINGTON, S.; JENKINS, D.; KURMAN, R.; SCHMIDT, D.; STOLER, M.; VON K.D.M. p16^{INK4a} Immunohistochemistry Improves Interobserver Agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 26, n.11, p. 1389-99, 2002.

KLENCKE, B.J.; PALEFSKY, J.M. Anal cancer: an HIV-associated Cancer. **Hematology Oncology Clinics of North America**. v.17, p.859-72, 2003.

KREUTER, A.; BROCKMEYER, N.H.; HOCHDORFER, B.; WEINSSNBORN, S.J.; STÜCKER, M.; SWOBODA, J.; ALTMAYER, P.; PFISTER, H.; WIELAND, U. Clinical spectrum and virologic characteristics of anal intraepithelial neoplasia in HIV infection. **Journal of American Academy of Dermatology**. v.52, p.603-8, 2005.

LANGRISH, C.L.; MCKENZIE, B.S.; WILSON, N.J.; MALEFYT, R.W.; KASTELEIN, R. A.; CUA, D.J. IL-12 and IL-23: master regulators of innate and adaptive immunity. **Immunological Reviews**, v.202, n.1, p. 96, 2004.

LEDERMAN, M.M.; VEAZEY, R.S.; OFFORD, R.; MOSIER, D.E.; DUFOUR, J.; MEFFORD, M. Prevention of vaginal SHIV transmission in rhesus, macaques through inhibition of CCR5. **In Science Magazine**. v.306, p.485-7, 2004.

LILLO, F.B.; FERRARI, D.; VEGLIA, F.; ORIGONI, M>; GRASSO, M.A.; LODINI, S. Human papillomavirus infection and associated cervical disease in human immunodeficiency virus-infected women: effect og highly active antiretroviral therapy. **J Infect Dis**. V.184, p.547-51, 2001.

LIU, R.; PAXTON, W.A.; CHOE, S.; CERADINI, D.; MARTIN, S.R.; HORUK, R.; MACDONALD, M.E.; STUHLMANN, H.; KOUP, R.A.; LANDAU, N.R. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. **Cell**. v.86, p.367-77, 1996.

LOIOLA, A. **Câncer anal**, disponível em: <
http://www.medstudents.com.br/content/resumos/resumo_medstudents20070629_01.doc>, acesso em 31 ago. 2007.

LORÉ, K.; SÖNNERBORG, A.; BROSTRÖM, C.; GOH, L.; PERRIN; L.; MCDADE, H.; STELLBRINK, H.; GAZZARD, B.; WEBER; R.; NAPOLITANO, L.A.; KOOYK, Y.; ANDERSSON, J. Accumulation of DC-SIGN⁺CD40+dendritic cells with reduced CD80 and CD86 expression in lymphoid tissue during acute HIV-1 infection. **AIDS**, v.16, p.683-92, 2002.

MACATONIA, S.E.; LAU, R.; PATTERSON, S.; PINCHING, A.J.; KNIGHT, S. C. Dendritic cell infection, depletion and dysfunction in HIV-infected individuals. **Immunology**. v.71, p.38-45, 1990.

MACHADO, P.R.L.; ARAÚJO, M.I.A.S.; CARVALHO, L.; CARVALHO, E.M. **Mecanismos de resposta imune às infecções.** Disponível em <www.anaisdedermatologia.org.br/artigo_imprimir.php?artigo_id=197> acesso em: 20 set 2007.

MADISON, K.C. Barrier function of the skin: "La Raison d'Etre" of the epidermis. **Journal of Investigative Dermatology**, v.121, p.231-41, 2003.

MANZIONE, C.R.; NADAL, S.R.; CALORE, E.E. Postoperative follow-up of anal condyloma acuminata in HIV-positive patients. **Diseases of the colon and rectum**. v.46, n.10, p.1358-65, 2004.

MARCHETTI, B; ASHRAFI, G.H.; TSIRIMONAKI, E.; O'BRIEN, P.M.; CAMPO, M.S. The bovine papillomavirus oncoprotein E5 retains MHC class I molecules in the Golgi apparatus and prevents their transport to the cell surface. **Oncogene**, v.21, n.51, p.7808-16, 2002.

MARTINS, C. **HPV-induced anal displasia: what do we know and what can we do about it?** Disponível em: <http://www.hopkins-aids.edu/publications/report/may01_3.html>. Acesso em: 10 jan. 2005.

MCDONALD D.; WU, L.; BOHKS, S.M.; KEWAL, V.N.; RAMANI, D.U.; HOPE, T.J. Recruitment of HIV and its receptors to dendritic cell-T cell junctions. **Science**. v.300, p.1295-97, 2003.

MELBYE, M.; SPROGEL, P. Aetiological parallel between anal cancer and cervical cancer. **Lancet**, v.338, p.657-9, 1991.

MELBYE, M.; COTÉ, T.R.; KESSER, L.; GAIL, M.; BIGGAR, R.J. High incidence of anal cancer among AIDS patients. **Lancet**, v.343, p.636-9, 1994.

MESSNER, D. JACQUÉ, J.M.; SANTISTEBAN, C.; BRISTOW, C.; HAN, S.Y.; VILLAMIDE-HERRERA, L.; MEHLHOP, E.; MARX, P.R.; STEINMAN, R.H.; GETTIE, A.; POPE, M. Endogenously expressed nef uncouples cytokine and chemokine production from membrane phenotypic maturation in dendritic cells. **J. Immunol.**, v. 169, p. 4172-4182, 2002.

MIYAGI, J.; KINJO, T.; TSUHAKO, K.; HIGA, M.; IWAMASA, T.; KAMADA, Y. Extremely high Langerhans cells infiltration contributes to the favourable prognosis of HPV-infected squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the lung. **Histopathology**, n.38, p.355-67, 2001.

MUNOZ, N.; BOSCH, F.X.; SANJOSE, S.; HERRERO, R.; CASTELLSAGUE, X.; SHAH, K.V. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. **New England Journal of Medicine**, v.348, n.6, p.518-27, 2003.

NADAL, R.S.; CALORE, E.E.; CRUZ, S.H.A.; HORTA, S.H.C.; MANZIONE, C.R.; BIN, F.C.; CAPELHUCHNIK, P.; KLUG, W.A. Comparação das contagens das células de Langerhans de tecidos contendo carcinoma anal em doentes com e sem infecção pelo HIV. **Rev Bras Coloproct.** v.26, n.3, p.269-74, 2006a.

NADAL, R.S.; MANZIONE C.R. Papilomavírus Humano e o Câncer Anal. **Rev Bras Coloproct.** v.26, n. 2, p.204-7, 2006b.

NADAL, R.S.; HORTA, S.H.C.; CALORE, E.E.; MANZIONE, C.R. Resultado do tratamento do carcinoma espinocelular anal e do seu precursor em doentes HIV-positivos. **Rev Assoc Med Bras.** V.53, n.4, p.365-9, 2007.

NETTER, F.H. **Atlas interativo de Anatomia Humana.** USA: D_xR Development Group, Inc., 1999.

NOBILE, C. Covert human immunodeficiency virus replication in dendritic cells and in DC-SIGN-expressing cells promotes long-term transmission to lymphocytes. **J Virol**, v. 79, p. 5386-5399, 2005.

PACHIADAKIS, L.; POLLARA, G.; CHAIN, Benjamin M.; NAUMOV, N. Is hepatitis c virus infection of dendritic cells a mechanism facilitating viral persistence? **Lancet**, v.5, p. 296-304, 2005.

PALEFSKY, J.M.; HOLLY, E.A.; GONZALES, J.; BERLINE, J.; AHN, D.K.; GREENSPAN, J.S. Detection of human papillomavirus DNA in anal Intraepithelial neoplasia and anal cancer. **Cancer Research**, v.51, p.1014-9, 1991.

PALEFSKY, J.M.; HOLLY, E.A. Molecular virology and epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. **Cancer Epidemiol Biomarks Prev**, v.4, n.4, p.415-28, 1995.

PALEFSKY, J.M.; HOLLY, E.A.; BERRY, J.M.; JAY, N.; DARRAGH, T.M. Anal cytology as a screening tool for anal squamous intraepithelial lesions. **J. Acquir Immune deficient Syndrome Humam retroviral**, v.14, p.415-22, 1997.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E.A.; RALSTON, Mary L.; JAY, Naomi. 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**, 177, p.361-7, 1998a.

PALEFSKY, J.M.; HOLLY, E. ; RALSTON, M.L.; JAY, N; BERRY, J.M.; DARRAGH, T.M. High incidence of anal high-grade squamous intra-epithelial lesions among HIV-positive and HIV-negative homosexual and bisexual men. **AIDS**, v.12, n.5, p.495-503, 1998b.

PALEFSKY, J.M.; HOLLY, E.A.; HOGEBOM, C.J. RALSTON, M;L. DA COSTA, M.M.; BATTIS, R. Virologic, immunologic, and clinical parameters in the incidence and progression of anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive and HIV-negative homosexual men. **J Acquir Immune Defic-Syindr Hum Retrovirol**, v. 17, p.314-9, 1998c.

PALEFSKY, J.M.; HOLLY, E.A.; RALSTON, M.L.; ARTHUR, S.P.; JAY, N.; BERRY, J.M.; DA COSTA, M.M.; BOTTIS, R.; DARRAGH, T.M. Anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive and HIV-negative homosexual and bisexual men: prevalence and risk factors. **J. Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.** v.17, p.320-6, 1998d.

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

PALEFSKY, J.M.; GOLDSTONE, S.E.; NEEFE, J. HspE7 treatment of high-grade anal dysplasia: final results of an open-label trial and interim long-term follow-up. In: 20TH INTERNATIONAL PAPILLOMAVIRUS CONFERENCE; Paris: Oct. 4-9, 2002.

PALEFSKY, J.M.; HOLLY, E.A. Immunosuppression and co-infection with HIV. **Journal of the National Cancer Institute Monographs**, n.31, p.41-6, 2003.

PALEFSKY, J.M.; HOLLY, E.A.; EFIRDC, J.T.; COSTA, M.; NAOMI, J.; BERRY, J.M.; DARRAGH, T.M. Anal intraepithelial neoplasia in the highly active antiretroviral therapy era among HIV-positive men who have sex with men. **AIDS**, v.19, p. 1407-14, 2005.

PIKETTY, C.; DARRAGH, T.M.; COSTA, M. High prevalence of anal human papillomavirus infection and anal cancer precursors among HIV-infected persons in the absence of anal intercourse. **Ann Intern Med**. v.138, n.6, p.253-9, 2003.

GenBank. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez/>> Acesso em: 05/10/2007.

QUARANTA, M.G.; TRIATELLI, E.; GIORDANI, L.; VIORA, M. HIV-I Nef induces cell differentiation: a possible mechanism of uninfected CD4+ T cell activation. **Exp. Cell Res**, v. 275, p. 243-254, 2002.

RANDOLPH, G.J.; ANGELI, V.; SWARTZ, M.A. Dendritic-cells trafficking to lymph nodes through lymphatic vessels. **Nature Reviews Immunology**, v. 5, p. 617-28, 2005.

REMMERBACH, T.W.; BRINPKMANN, U.T.; HEMPRICH, A.; CHEKOL, M.; KUHNDEL, K.; LIEBERT, U.G. PCR detection of human papillomavirus of the mucosa: comparison between MY09/11 and GP+/6+ primer sets. **Journal of clinical virology**. v.30, p. 302-8, 2004.

RUSSOMANO, F. **A infecção pelo HPV**- Presença de HPV nos fluidos em geral. Disponível em: <<http://www.cervical.com.br>>. Acesso em: 20 mai. 2004.

SAPP, M. Dendritic cells generated from blood monocytes of HIV-1 patients are not infected and act as competent antigen presenting cells eliciting potent T-cell responses. **Immunol.Lett**. v.66, p.121-8, 1999.

SCHWARTZ, O. L. Cells Lap up HIV-1. **Nature Medicine**. v.13, n.3, mar 2007.

SCOTT, M.; NAKAGAWA, M.; MOSCICKI, A.B. Cell-mediated immune response to human papillomavirus infection. **Clin Diagn Lab Immunol**, v.8, p.209-20, 2001.

SEGURA, E.; NICCO, C.; LOMBARD, B.; VÉRON, P.; RAPOSO, G.; BATTEUX, F.; AMIGORENA, S.; THÉRY, C. ICAM-1 on exosomes from mature dendritic cells is critical for efficient naive T-cell priming. **Blood**, v.106, n.1, p.216-23, 2005.

SHINYA, E.; ATSUKO OWAKI, M. S.; TAKEUCHI, J.; KAWASHIMA, T.; HIDAKA, C.; SATOMI, M.; WATARI, E.; SUGITA, M.; TAKAHASHI, H. Endogenously expressed HIV-1 *nef* down-regulates antigen-presenting molecules, not only class I MHC but also CD1a, in immature dendritic cells. **Virology**. V. 326, n.1, p.79-89, 2004.

SMED-SORENSEN, A; LORÉ, K.; VANSUDEVANN, J.; LOUDER, M.K.; ANDERSSON, J.; MASCOLA, J.R.; SPETZ, A.L.; KOUP, R.A. Differential susceptibility to human immunodeficiency virus type I infection of myeloid and plasmacytoid dendritic cells. **J. Virol.**, v. 79, p. 8861-8869, 2005.

SOBHANI, I.; VUAGNAT, A.; WALKER, F.; VISSUZAIN, C.; MIRIN, B.; HERVATIN, F.; MARMUSE, J.; CRÉMIEUX, A.; CARBON, C.; HENIN, D.; LEHY, T.; MIGNON, M. Prevalence of high-grade dysplasia and cancer in the anal canal in human papillomavirus-infected individuals. **Gastroenterology**. V.120, p.857–66, 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.

SOBHANI, I.; WALKER, F.; ROUDOT-THORAVALL, F.; ABRAMOWITZ, L.; JOHANET, H.; HÉNIN, D.; DELCHIER, J.; SOULÉ, J. Anal Carcinoma: incidence and effect of cumulative infections. **AIDS**, v.18, p.1561-69, 2004.

SOILLEUX, E.J.; MORRIS, L.S.; LESLIE, G. Constitutive and induced expression of DC-SIGN on dendritic cells and macrophage subpopulations in situ and in vitro. **J Leucocyte Biol**, v.71, p.445-57, 2002.

SOILLEUX, E.J. DC-SIGN (dendritic cell-specific ICAM-grabbing non-integrin) and DC-SIGN-related (DC-SIGNR): friend or foe? **Clinical science**. v.104, p.437-46, 2003.

SOL-FOULOU. HIV-1 Nef-induced upregulation of DC-SIGN in dendritic cells promotes lymphocyte clustering and viral spread. **Immunity**, v. 16, p. 145-155, 2002.

STEENBERGEN, RENSKÉ D.M.; WILDE, J.; WILTING, S.M.; BRINK, A.A.T.P.; SNIJDERS, P.J.F.; MEIJER, C.J.L.M. HPV-mediated transformation of the genital tract. **Journal of Clinical Virology**, v. 32S, p.S25-33, 2005.

TAY, S.K.; JENKINS, D.; MADDUX, P.; CAMPION, M.; SINGER, A. Subpopulation of Langerhans cells in cervical neoplasia. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v.94, n.1, p.10-15, 1987.

TURVILLE, S.G.; ARTHOS, J.; MAC DONALD, K.; LYNCH, G.; NAIF, H.; CLARK, G.; HART, D.; CUNNINGHAM, A.L.; HIV gp21 receptors on human dendritic cells. **Blood**, v. 98, p. 2482-2488, 2001.

TURVILLE, S.G.; CAMERON, P.U.; HANDLEY, A.; LIN, G.; POHLMANN, S.; DOMS, R.W.; CUNNINGHAM, A.L. Diversity of receptors binding HIV on dendritic cell subsets. **Nature Immunology**, v.3, n.10, p.975-83, 2002.

TURVILLE, S.G.; SANTOS, J.J.; FRANK, I.; CAMERON, P.U.; WILKINSON, J.; MIRANDA-SAKSENA, M. **Immunodeficient virus uptake, turnover, and 2-phase transfer in human dendritic cells.** *Blood*, V. 103, P. 2170-2179, 2003.

TURVILLE, S.G.; SANTOS, J.J.; FRANK, I.; MIRANDA-SAKSENA, M.; DABLE, J.; STOSSEL, N.R.; PIATAK, M.; LIFSON, J.D.; POPE, M.; CUNNINGHAM, A.L. Immunodeficiency virus uptake, turnover, and 2-phase transfer in human dendritic cells. *Blood*, v. 103, n.6, p.2170-9, 2004.

UCHIMURA, N.S.; RIBALTA, J.C.L.; FOCCHI, J.; BARACAT, E.C., UCHIMURA, T.T. Fatores biocomportamentais e as alterações no número das células de Langerhans. *RBGO*, v. 26, n.4, p.289-94, 2004.

VERNON, S.D.; HART, C.E.; REEVES, W.C.; ICENOGLE, J.P. The HIV-1 tat protein enhances E2-dependent human papillomavirus 16. *Virus Res*, v.27, p.133-45, 1993.

VIEIRA, S. **Bioestatística, Tópicos Avançados.** 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

VOELER, B. AIDS and heterosexual anal intercourse. *Arch Sex Beha*, v.20, p.233-76, 1991.

VOLBERDING, P. Looking Behind: time for anal cancer screening. *The American Journal of Medicine*, v.108, p.674-5, 2000.

WEBER, F.; BYRNE, S.N., LE, S.; BROWN, D.A.; BREIT, S.N.; SCOLYER, R.A. Transforming growth factor-beta(1) immobilizes dendritic cells within skin tumour and facilitates tumor escape from the immune system. *Cancer Immunol Immunother*. V.54, p.898-906, 2005.

WILKIN, T.J.; PALMER, S.; BRUDNEY, K.F.; CHIASSON, M.A.; WRIGHT, T.C. Anal intraepithelial neoplasia in heterosexual and homosexual HIV-positive men with access to antiretroviral therapy. *J Infect Dis*. V.190, p.1685-91, 2004.

WITTE, L.; NABATOV, A.; PION, M.; FLUITSMA, D.; JONG, M.A.W.P.; GRUIJL, T.; PIGUET, V.; KOOYK, Y.; GEIJTENBEEK, T.B.H. Langerin is a natural barrier to HIV-1 transmission by Langerhans cells. *Nature Medicine*, v.13, n.3, 2007.

WU, L.; KEWALRAMANI, V.N. Dendritic-cell interactions with HIV: infection and viral dissemination. *Nature Reviews*, v.6, 2006.

ZAKI, S.R.; JUDD, R.; COFFIELD, L.M.; GREER, P.; ROLSTON, F.; EVATT, B.L. Human Papillomavirus infection and anal carcinoma. Retrospective analysis by in situ hybridization and the polymerase chain reaction. *American Journal of pathology*, v.140, p.1345-55, 1992.

ZHANG, P.; NOURI, M.; BRANDSMA, J.L.; IFTNER, T.; STEINBERG, B.M. Induction of E6/E7 expression in cottontail rabbit papillomavirus latency Following UV Activation. *Virology*, v.263, p.388-94, 1999.

ZIMMER, M. I.; LARREGINA, A. T.; CASTILLO, C. M.; CAPUANO III, S.; FALO JR, L.D.; MURPHEY-CORB, M.L.; REINHART, T.A.; BARRATT-BOYES, S. M. Disrupted homeostasis of Langerhans cells and interdigitating dendritic cells in monkeys with AIDS. *Blood*, v. 99, n. 8, p. 2859-2868, 2002.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
MESTRADO MULTIDISCIPLINAR EM PATOLOGIA TROPICAL

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**ANÁLISE DAS CÉLULAS DENDRÍTICAS NA MUCOSA ANAL DE PACIENTES HIV POSITIVOS
E RELAÇÃO COM A LESÃO ESCAMOSA INTRA-EPITELIAL E O CÂNCER**

DESCRIÇÃO E OBJETIVO DO ESTUDO

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

Estamos lhe convidando para participar da pesquisa Relação das células dendríticas com a lesão escamosa intra-epitelial e o câncer na mucosa anal de pacientes HIV positivos. Você foi escolhido por ter interesse em saber se têm doenças no ânus (via) ou por ter vírus do HIV/AIDS. Na consulta veremos se as células dendríticas (da defesa do seu corpo) que estão no ânus (via) de todas as pessoas estão normais em você, as coletaremos durante o exame no ânus (via) com um aparelho descartável (que se joga fora após o uso) para olhar por dentro, colocaremos um ácido fraco com algodão e faremos biópsia(retirada de um pequenino pedaço) no local suspeito de doença e no normal para controle, isso geralmente não causa dor já que é muito pequena, mas se necessário faremos uma pequena anestesia no local, que pode arder levemente, acelerar o coração e dar mal estar, caso 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, não é preciso se preocupar. Uma amostra de seu sangue também será necessária para testar o HIV/AIDS, sua quantidade e o número de células de defesa que você tem no sangue.

Gostaríamos, com o trabalho, de conhecer quantas pessoas tem a inflamação grave no ânus (via) que pode virar câncer, e se as células de defesa do ânus (via) e do sangue estão diminuídas facilitando a doença, com isso podemos criar um programa para descobrir a doença no início, antes que ela vire câncer. Você precisará 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 Dumas pelo 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 do Amazonas (FMTAM), 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 Universidade e da Fundação 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, expressei meu consentimento para minha inclusão nesta pesquisa.

.....
ASSINATURA DO PACIENTE OU REPRESENTANTE LEGAL



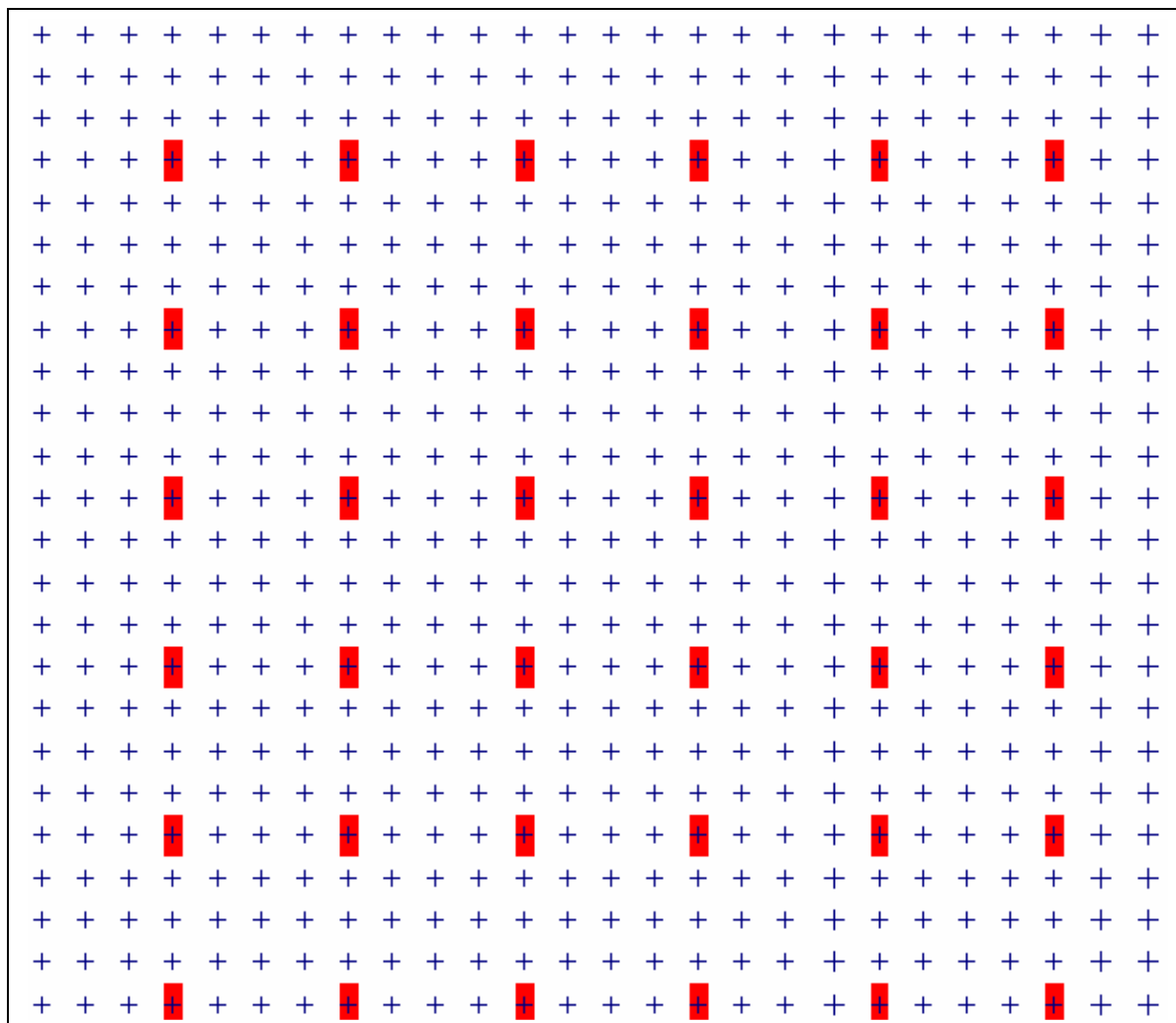
IMPRESSÃO DO POLEGAR DIREITO DO PACIENTE,
CASO ESTE NÃO SAIBA ESCREVER SEU NOME.

.....
LOCAL E DATA

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL PELO ACOMPANHAMENTO E
INFORMAÇÕES AO PACIENTE:**

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

.....
ASSINATURA

APÊNDICE B - Grid para contagem de células sobre projeção de campo microscópico

APÊNDICE C – Cálculo do Volume Relativo

O volume relativo de um componente dentro do espaço de referência é dado por:

$$V_v = \frac{\sum_{i=1}^n P_i}{\sum_{i=1}^n P_{ref}}$$

Onde V_v é o volume relativo de um componente, $\sum_{i=1}^n P_i$ é o somatório dos pontos sobre a estrutura ou componente de interesse e $\sum_{i=1}^n P_{ref}$ é o somatório de pontos sobre o espaço de referência (HOWARD; REED, 1998).

ANEXO 1 - Fórmula utilizada para o cálculo amostral

CÁLCULO DA AMOSTRA

Trabalho base: SOBHANI et al., 2002

Programa EPIINFO[®], 2001.

Sample size, Case-control study

Ratio of controls per cases	:	1.0
Odds ratio worth detecting	:	4.5
% of exposure among controls (%)	:	16.2
Power	:	90%
Confidence level	:	95%
Number of Cases	:	54
Number of Controls	:	54
Total #	:	108

- Describe Compare Study Sample Probability Setup

Sample size calculation in a case-control study

Sample size calculations ?

The formula for calculating the required number of cases for a case-control study is:

$$n = m/4 [1 + 1 + (2(c+1)(m'cp_2 - p_1))]^2$$

$$m = [Z_{\alpha}^2(c+1)pq + Z_{(1-\beta)}^2cp_1q_1 + p_2q_2]^2 / c(p_2 - p_1)^2$$

with

$$p_2 = p_1 * OR / [1 + p_1(OR - 1)]$$

$$p = (p_2 + cp_1) / (1 + c)$$

$$q = 1 - p$$

OR : Odds ratio worth detecting

c : ratio of controls/cases

Z_{α} : alpha risk

$Z_{(1-\beta)}$: power

p_1 : proportion exposure among control population

Fonte: Fleiss (1981).

ANEXO 2 - Requisição de Exame Histopatológico

REQUISIÇÃO DE EXAME HISTOPATOLÓGICO – ANOSCOPIA COM MAGNIFICAÇÃO

UF	Cartão SUS	Código da Unidade de Saúde
Unidade de Saúde		
Município	Prontuário	

INFORMAÇÕES PESSOAIS

Nome Completo		Apelido	
Nome Completo da Mãe			
Identidade	Órgão emissor	UF	CPF
Data de nascimento	Idade	Cor	
Dados Residenciais – Logradouro			
Número	Complemento		
Bairro	Município	UF	
CEP	DDD	Telefone	Contato
Escolaridade:		☐ Analfabeto	☐ 1º G ☐ 2º G ☐ 3º G

DADOS DA ANAMNESE

Fez o Pap-a alguma vez? ☐ Sim Quando? (ano) ☐ Não ☐ Não sabe

☐ DST Qual? ☐ Gon ☐ Sif ☐ Her ☐ Clam ☐ Outra: _____

☐ AR ☐ AD+ ☐ AD- ☐ AD? ☐ CA ☐ CG ☐ CSIL ☐ TAB ☐ TRA ☐ DR

☐ Doença associada Qual(is)? _____

CD4: _____ Carga viral: _____ Linfonodomegalia inguinal ☐

INSPEÇÃO PROCTOLÓGICA

☐ Soiling ☐ Pus ☐ Sangue ☐ Ferida anal ☐ Medicamento anal

Qual? _____

ANOSCOPIA MAG Neg ☐ + elevada (a) ☐ + plana (b) ☐

Posição Margem anal (c) ☐ Anoderma (d) ☐ Pectínea (e) ☐ Suprapectínea (f) ☐

Posição Vertical

Posição Horizontal 1h ☐ 2h ☐ 3h ☐ 4h ☐ 5h ☐ 6h ☐ 7h ☐ 8h ☐ 9h ☐ 10h ☐ 11h ☐ 12h ☐

2ª lesão: 3ª lesão: Obs: _____

Data da Coleta _____ Coletor(a): assinatura e carimbo _____

Instituição onde foi realizada a coleta _____

Fonte: Costa e Silva (2005).

Livros Grátis

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

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

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

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

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