



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA TROPICAL

**CÉLULAS DE LANGERHANS NO COLO UTERINO DE MULHERES HIV-
SOROPOSITIVAS COM NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL**

STEFAN WELKOVIC

RECIFE JUNHO DE 2007

STEFAN WELKOVIC

**CÉLULAS DE LANGERHANS NO COLO UTERINO DE MULHERES HIV-
SOROPOSITIVAS COM NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL**

**TESE APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL –
CCS/UFPE COMO REQUISITO PARA
OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM
MEDICINA TROPICAL ÁREA DE
CONCENTRAÇÃO: MEDICINA TROPICAL.**

ORIENTADOR:

PROF. DR. RICARDO ARRAES DE ALENCAR XIMENES

RECIFE 2007

Células de Langerhans no colo uterino de mulheres HIV – soropositivas com neoplasia intraepitelial cervical / Stefan Welkovic. – Recife: O Autor, 2007.

133 folhas; fig., tab.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Medicina Tropical, 2007.

Inclui bibliografia e anexos.

1. AIDS 2.NIC 3. Células de Langerhans 4.

Câncer de colo 5. Células de Langerhans I. Título.

616.97	CDU (2.ed.)	UFPE
616.951	CDD (20.ed.)	CCS2007-121



RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DO DOUTORANDO

STEFAN WELKOVIC

No dia 21 de junho de 2007, às 08h30, na Sala Prof. Murilo La Greca do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (C.C.S./UFPE), os Professores: **Prof.^a Dr.^a Célia Maria Machado Barbosa de Castro (Depto. de Medicina Tropical/UFPE – Membro Interno)**, **Prof. Dr. Hélio de Lima Ferreira Fernandes Costa (Depto. Materno Infantil/UPE – Membro Externo)**, **Prof.^a Dr.^a Laura Olinda Bregieiro Fernandes Costa (Depto. Materno Infantil/UPE – Membro Externo)**, **Prof.^a Dr.^a Norma Lucena Cavalcanti Licínio da Silva (Depto. de Imunologia/CPqAM-FIOCRUZ – Membro Externo)** e o **Prof. Dr. Petrus Augusto Dornelas Câmara (Depto. Materno Infantil/UFPE – Membro Externo)**, componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, argüíram o doutorando **STEFAN WELKOVIC** sobre a sua Tese intitulada **“CÉLULAS DE LANGERHANS NO COLO UTERINO DE MULHERES HIV-SOROPOSITIVAS COM NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL”**. Ao final da argüição de cada membro da Banca Examinadora e resposta do doutorando, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

Prof.^a Dr.^a Célia Maria Machado Barbosa de Castro

APROVADO

Prof. Dr. Hélio de Lima Ferreira Fernandes Costa

Hélio Costa (APROVADO)

Prof.^a Dr.^a Laura Olinda Bregieiro Fernandes Costa

APROVADO

Prof.^a Dr.^a Norma Lucena Cavalcanti Licínio da Silva

APROVADO

Prof. Dr. Petrus Augusto Dornelas Câmara

APROVADO

Célia M. M. B. Castro

Prof.^a Dr.^a Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Hélio Costa

Prof. Dr. Hélio de Lima Ferreira Fernandes Costa

Laura Olinda Bregieiro Fernandes Costa

Prof.^a Dr.^a Laura Olinda Bregieiro Fernandes Costa

Norma Lucena Cavalcanti Licínio da Silva

Prof.^a Dr.^a Norma Lucena Cavalcanti Licínio da Silva

Petrus Augusto Dornelas Câmara

Prof. Dr. Petrus Augusto Dornelas Câmara

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
REITOR
Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR
Prof. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
Prof. Dr. José Tadeu Pinheiro

DEPARTAMENTO DE MEDICINA TROPICAL
Prof. Dr. Josemir Belo dos Santos

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL
DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL
COORDENADORA
Profa. Dra. Heloísa Ramos Lacerda de Melo

VICE-COORDENADOR
Prof. Dr. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho

AGRADECIMENTOS

- Ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo Ximenes, grande amigo e principal figura no desenvolvimento desta pesquisa.
- À Prof. Dra. Norma Lucena Licínio Dias e ao Prof. Albert Eduardo Silva Martins do Laboratório de Biologia Molecular do Serviço de Oncologia do Instituto Materno-infantil Prof. Fernando Figueira e à Prof. Dra Renata Toscano Simões da Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto que foram os responsáveis pela tipagem viral do HPV.
- À Profa. Dra. Aronita Rosenblat, então Pró-reitora de Pós-graduação, Pesquisa e Extensão da UPE que viabilizou a aquisição do kit de coloração de imunohistoquímica.
- À equipe de Patologia e Imunohistoquímica do Hospital do Câncer, na pessoa do Prof. Dr. Luciano Montenegro, que gentilmente corou nossas lâminas.
- Ao Prof. Diógenes Luís da Mota, histologista da UFPE e UPE, que fez a contagem das células de Langerhans.
- À Dra. Rosângela Pontes de Andrade, patologista do CISAM, que realizou os exames anátomo-patológicos.
- À Prof. Dra. Virgínia da Conceição Ribes Amorim Bezerra Brandão, citopatologista do CISAM, que foi a responsável pela leitura das lâminas de citologia
- Ao Hospital Correia Picanço, que nas pessoas de Dra. Miriam Silveira, Dra. Ana Aurora Lopes Pinto e da Prof. Dra. Magda Maruza Melo de Barros Oliveira, abriu suas portas à minha pesquisa, e a Maria Cristina Albuquerque Barros que me ajudou no ambulatório

- A Prof. Dra. Maria Luiza Bezerra de Menezes, Dra. Maria Helena Pontes e Profa. Dra. Alethéia Soares do SAE/CISAM e a Dra. Catarina Beltrão, pelo encaminhamento de pacientes.
- Ao então Magnífico Reitor da UPE – Prof. Dr. Emmanuel Dias de Oliveira e Silva, ao Chefe do Departamento Materno Infantil - Prof. Dr. Germano Lomashinky e ao titular da Cadeira de Tocoginecologia da UPE - Prof. Dr. Hélio de Lima Ferreira Fernandes Costa, pela liberação das minhas atividades docentes, a fim de me dedicar exclusivamente a esta pesquisa.
- Aos meus colegas de plantão da quarta-feira na Maternidade da Encruzilhada, por facilitar meu trabalho nos momentos mais críticos da elaboração desta pesquisa.
- A Jupira Pinho Ramos e Walter Leite Galdino pela amizade e ajuda na Secretaria do Doutorado de Medicina Tropical da UFPE.
- Às alunas Camila Freire e Aline Hoffman, que ajudaram nas entrevistas da pesquisa
- Aos colegas de doutorado, Júlia Correia, Fernando Pedroza, Conceição Correia e Isabel Lynch, pelo compartilhamento das agruras e alegrias no decorrer do curso.
- Ao Prof. Dr. Olímpio Moraes Filho e à Profa. Dra. Elisabete Malagueño de Santana, que participaram da pré-banca fornecendo-me as devidas correções e orientações para o epílogo dos trabalhos.
- Às mulheres que tomaram parte do estudo, por tão gentilmente concordar em participar dela.
- Aos que porventura olvidei, que saibam não ficou grafado no papel, mas escrito no coração.
- E Àquele a Quem temos tão pouco a pedir e tanto a agradecer

Dedico esta tese

À minha família: Walméry, Bárbara, Bernardo e a
Stefan Jr., motivo maior da minha vida,

Aos meus pais Risto (*in memoriam*) e Maria, pelo
que tento imitá-los junto aos meus filhos.

E a todos que me educaram e continuam me
educando nesta vida.

RESUMO

Objetivo: Comparar a densidade das Células de Langerhans (CL) no colo uterino de mulheres HIV-soropositivas em diferentes graus de Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC).

Método: Foram avaliadas 55 mulheres infectadas pelo HIV com alterações colposcópicas e histocitológicas para detecção de NIC e densidade das CL entre março de 2005 e março de 2006. As CL foram identificadas utilizando coloração imunohistoquímica com proteína S-100. A reação em cadeia de polimerase foi utilizada para detectar o HPV-DNA cervical. A associação entre a densidade das CL, achados histológicos, contagem de linfócitos T CD4+, carga viral do HIV, detecção do HPV-DNA e tabagismo foram efetuados utilizando a comparação de médias pelo teste de Kruskal-Wallis e coeficiente de correlação de Spearman.

Resultado: A média de CL nas mulheres infectadas pelo HIV ($n=51$) foi de 1,90 células/mm². Não foi possível corar a lâmina de quatro mulheres e uma das mulheres foi excluída do estudo devido a diagnóstico de Carcinoma Cérvico-uterino Invasivo. A média das CL por campo microscópico foi de 1,94 células/mm² nas NIC de baixo grau ($n=24$) e 2,23 células/mm² nas de alto grau ($n=11$), porém esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,65$). A biópsia resultou negativa/metaplásica em 20 casos. Não houve associação significativa entre as médias das CL quando comparadas entre os diversos tipos de HPV ($p=0,68$), tabagismo ($p= 0,58$) e carga viral do HIV ($p= 0,77$). Ocorreu um maior número das CL quando a contagem de linfócitos T CD4+ foi menor que 200 células/mm², sem diferença estatisticamente significativa ($p=0,08$), mas o valor do p foi próximo ao ponto de corte (0,05).

Conclusão: Existe um maior número de CL no colo uterino de mulheres HIV-soropositivas com NIC de alto grau quando comparadas com as com NIC de baixo grau. O aumento destas células com o agravamento das NIC sugere que existe resposta do sistema imune contra células com atipias mais acentuadas em mulheres HIV soro-positivas.

ABSTRACT

Objective: To compare the density of cervical mucosa Langerhans Cells (LC) in HIV-positive women with HSIL or LSIL.

Method: Fifty-five HIV-infected women with colposcopic and histocitologic alterations were assessed for SIL and LC density between March 2005 and March 2006. LC were identified using the S-100 immunohistochemical stain. Polymerase chain reaction assays was used to detect cervical human papillomavirus (HPV)-DNA. Plasma HIV RNA levels were measured using a nucleic acid sequence-based amplification technique. The associations between cervical LC density, cervical histology, CD4⁺ counts, HIV viral loads, HPV-DNA detection and smoking status were assessed using Kruskal-Wallis comparison means test and the Spearman correlation coefficient.

Results: The Langerhans cell density in HIV-infected women ($n=51$) was 1,90 cell/mm². Four samples could not be stained due to technical difficulties. The LC per high powered fields was 1,94 cell/mm² in LSIL ($n=24$) and 2,23 in HSIL ($n=11$), but this difference was not statistically significant ($p=0,65$). In 20 cases the biopsy resulted negative/metaplastic. Neither HPV-DNA type ($p= 0,68$), smoking status ($p= 0,58$), nor HIV viral load ($p= 0,77$) was significantly associated with LC density, but there were an increased number of these cells when the T CD4⁺ count was lower then 200 cell/mm² ($p=0,08$).

Conclusion: There is a higher number of LC in women HIV-infected with HSIL when compared to LSIL but there is no statistically significance differences between the means of these cells. The increase of these cells with the aggravation of NIC suggests that the immunological response is maintained in HIV soro-positive women facing severe atypical cells.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HPV – Human Papilloma Virus (Vírus do papiloma humano)

HIV - Human Immunodeficiency Virus (Vírus da deficiência imunológica humana)

CCUI - Carcinoma cérvico-uterino invasivo

CD – Células Dendríticas

CL – Células de Langerhans)

NIC – Neoplasia Intraepitelial Cervical

UPE - Universidade de Pernambuco

HUOC – Hospital Universitário Oswaldo Cruz

HCP – Hospital Correia Picanço

CISAM - Centro Integrado de Saúde Amaury de Medeiros

FESP - Fundação de Ensino Superior de Pernambuco

IMIP - Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira

ACOG - American College of Obstetrician and Gynecology

ACS - American Cancer Society

PCR - Reação em Cadeia de Polimerase (Protein Chain Reaction)

WIHS - Women Interagency HIV Study

HLA – Antígenos Leucocitários Humanos

TARV - Terapia Antiretroviral

APC – Células apresentadoras de antígenos (Antigen Presenting Cells)

IARC - International Agency for Research on Cancer.

OMS – Organização Mundial de Saúde

LISTA DE TABELAS

<u>TABELA 1</u> – Distribuição das mulheres de acordo com dados socioeconômicos e demográficos	75
<u>TABELA 2</u> – Distribuição das mulheres quanto aos hábitos de fumar e de beber bebidasalcoólicas.....	76
<u>TABELA 3</u> – Distribuição das mulheres de acordo com dados relativos à contaminação pelo HIV, HPV e dados laboratoriais concernentes ao estado imunológico.....	78
<u>TABELA 4</u> - Testes de normalidade (Kolmogorov-Smirnov)	79
<u>TABELA 5</u> - Distribuição da densidade das CL em relação à idade, tabagismo, alcoolismo e escolaridade.....	80
<u>TABELA 6</u> - Distribuição da densidade das CL em relação às características do HIV.....	81
<u>TABELA 7</u> – Tipagem do HPV das 55 mulheres HIV-soropositivas submetidas a biópsia de colo uterino.....	83
<u>TABELA 8.</u> - Distribuição das CL de acordo com as características do HPV.....	84

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – Imunohistoquímica de biópsia cervical de paciente HIV-soropositiva.** a) Biópsia cervical corada com anticorpo anti-antígeno S-100 mostrando CL localizada imediatamente acima da camada basal (100 X) b) CL envolvendo célula binucleada (200 X) c) A seta escura aponta para o núcleo da CL e a seta branca mostra uma das suas projeções dendríticas (400 X) d) CL junto a vários coilocitos. A seta escura aponta para o núcleo da CL. (400X)..... Pág. 66
- FIGURA 2 - Amplificação da seqüência do gene L1 de HPV a partir de biópsia de tumores de colo uterino com inicializadores MY09/11.....** Pág. 69
- FIGURA 3 - Tipagem de papiloma vírus pela técnica PCR-RFLP.....** Pág. 70

SUMÁRIO

RESUMO.....	Pág. 9
ABSTRACT.....	Pág. 11
LISTA DE ABREVIATURAS ESINAIS.....	Pág. 12
LISTA DE TABELAS	Pág. 13
LISTA DE FIGURAS	Pág. 14
1. DELIMITAÇÃO DO TEMA	Pág. 17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	Pág. 26
2.1 O Câncer Cérvico-uterino Invasivo.....	Pág. 26
2.2 Neoplasia Intraepitelial Cervical e Papilomavírus Humano.....	Pág. 30
2.3 Papilomavírus Humano, Neoplasia Intraepitelial Cervical, Carcinoma Cérvico-Uterino Invasivo e o Vírus Da Imunodeficiência Humana.....	Pág. 36
2.4 - O Vírus da Imunodeficiência Humana e a Neoplasia Intraepitelial Cervical.....	Pág. 41
2.5 As Células de Langerhans.....	Pág. 45
3. DEFINIÇÃO DOS OBJETIVOS.....	Pág. 56
3.1 Objetivo Geral.....	Pág. 56
3.2 Objetivos Específicos.....	Pág. 56
4. SUJEITOS E MÉTODOS.....	Pág. 57
4.1 Delineamento do Estudo.....	Pág. 57
4.2 População alvo.....	Pág. 57

4.3 Critérios de Inclusão.....	Pág. 57
4.4 Critérios de Exclusão.....	Pág. 57
5. Tipo de Amostragem e Definição do Tamanho da Amostra.....	Pág. 58
6. Definição e Categorização das Variáveis	Pág. 59
7. Processamento e Análise dos Dados.....	Pág. 63
8. Aspectos éticos.....	Pág. 63
9. Métodos de Coleta.....	Pág. 64
10. Padronização das Técnicas	Pág. 65
10.1 Histopatologia	Pág. 65
10.2 Imunohistoquímica	Pág. 65
10.2.1 Processamento.....	Pág. 65
10.2.2 Leitura das Células de Langerhans	Pág. 66
10.3 Extração do DNA da amostra	Pág. 68
10.4 Reação em Cadeia de Polimerase.....	Pág. 68
10.5 Tipagem do HPV.....	Pág. 69
10.6 Sequenciamento.....	Pág. 72
11 RESULTADOS.....	Pág. 73
10.1 Caracterização da amostra.....	Pág. 73
10.2 Análise das médias.....	Pág. 79
11 DISCUSSÃO.....	Pág. 85
12 CONCLUSÕES.....	Pág.100
13 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	Pág.101
14 ANEXOS.....	Pág.122

1. DELIMITAÇÃO DO TEMA

O Câncer Cérvico-Uterino Invasivo (CCUI) é o segundo câncer ginecológico mais freqüente no mundo, só sendo superado pelo de mama (GARLAND, 2002; FERLAY *et al.*, 2005). Cerca de quinhentas mil mulheres no mundo foram diagnosticadas no ano 2000 como portadoras de CCUI (PARKIN *et al.*, 2001), número que vem se manteve em 2005 (FERLAY *et al.*, 2005). A maioria destes cânceres é encontrada em países em desenvolvimento e em mulheres no pico do período reprodutivo (POLLACK *et al.*, 2006). No Brasil, por ano, são diagnosticados cerca de 20 mil novos casos por ano (SILVA, 2004). O papilomavirus humano (HPV) é o grande agente responsável pelo CCUI e, por ser um vírus de transmissão sexual, considera-se o CCUI uma doença sexualmente transmissível (JACYNTHO & ALMEIDA FILHO, 1994).

O HPV tem sido responsabilizado como agente etiológico do CCUI desde os anos 70. As células cervicais contêm aproximadamente 90% a 95% DNA de HPV (CHOPRA & TYRING, 1997). A idade precoce do primeiro coito, parceiros múltiplos e a ausência de exames preventivos são fatores de risco para que haja evolução da infecção pelo HPV e coincidem ser os mesmos para CCUI (MONTEIRO JUNIOR, 2001). A estes fatores se somam as deficiências nutricionais de carotenos, ácido fólico e vitamina C (LEON CRUZ & FAXAS, 2004), infecção por tipos oncogênicos específicos de HPV (GHEIT *et al.*, 2006), imunossupressão (CHOPRA & TYRING, 1997) e tabagismo (BARTON *et al.*, 1988; POPPE *et al.*, 1995; POPPE *et al.*, 1996; CHARNOW, 1998; SZAREWSKI *et al.*, 2001).

Atualmente a infecção pelo HPV é a doença sexualmente transmitida mais prevalente no mundo. Um em cada três indivíduos sexualmente ativos tem um tipo de HPV (CHOPRA & TYRING, 1997), ou uma em cada quatro mulheres americanas (DUNNE *et al.*, 2007). Mundialmente, cerca de cinco e meio milhão de novos casos são notificados a cada ano (DAILARD, 2001).

O HPV é um vírus de cadeia dupla que é responsável pelos condilomas genitais e lesões epiteliais proliferativas. Mais de 130 subtipos de HPV já foram identificados (WILEY & MASONSONG, 2006). A maioria desses tipos manifesta lesões epiteliais benignas (condilomas). Entretanto, alguns tipos específicos (16 e 18) têm uma tendência a provocar Neoplasias Intraepiteliais Cervicais (NIC) e representam papel essencial na gênese do câncer genital feminino.

A incidência de HPV é maior em indivíduos imunodeprimidos por conta de transplantes, uso de corticosteróides, rádio ou quimioterapia, bem como nos pacientes HIV-soropositivos (BELSITO *et al.*, 1982; CHOPRA & TYRING, 1997; SOUTHERN & HERRINGTON, 1998).

Os linfócitos T CD4+ de memória são detectados precocemente na mucosa genital de mulheres durante a transmissão do HIV (GUPTA *et al.*, 2002), contudo os efeitos citopáticos do HIV nas células T-helper (CD4+) faz com que haja uma diminuição da capacidade celular da resposta contra bactérias, fungos, parasitas e outros vírus. Assim, os indivíduos infectados pelo HIV têm uma prevalência maior de co-infecção com HPV e risco relativo de desenvolverem condilomas dez vezes maior que a população geral. Enquanto a prevalência de lesões precursoras de CCUI na população é de 2% a 13%, nas pacientes infectadas pelo HIV é de 20% a 42%. Por este motivo, desde 1993, o CCUI é

considerado uma condição definidora de AIDS, de acordo com o Center for Disease Control (C.D.C., 1993).

Mulheres com deficiência imunológica não só têm maior prevalência de infecções por HPV, mas também alta incidência de NIC e CCUI (BAKER, 1994). Uma elevada prevalência de infecção por HPV de “alto risco” (16 e 18) e de “médio risco” (31, 33, e 35) tem sido responsabilizada pelo aumento de casos de NIC e CCUI em indivíduos infectados por HIV (WRIGHT JR *et al.*, 1994b; ELLERBROCK *et al.*, 2000). Alguns estudos citam um aumento de 16 vezes para CCUI em mulheres imunocomprometidas (LORENZATO *et al.*, 2001). Pesquisa do nosso grupo, realizada em centro de referência para doenças do trato genital, constatou que as mulheres HIV-soropositivas têm uma chance cinco vezes maior de ter uma NIC de alto grau quando comparadas com mulheres HIV-soronegativas e que a frequência de NIC é maior nas pacientes com reduzidos níveis periféricos de linfócitos T CD4+ (MATOS *et al.*, 2003).

Paralelamente aos efeitos profundos na imunidade sistêmica, a infecção pelo HIV provoca enfraquecimento do sistema imune mediado por células no colo uterino (HUGHES *et al.*, 1988; SPINILLO *et al.*, 1996; AHMED *et al.*, 2001) e uma queda no número dos linfócitos T CD4+ e na razão CD4/CD8 (HU *et al.*, 1998). As CL representam um papel essencial na resposta imune da região de pele e mucosas (LI, 2002) e os receptores CD4+ e HLA-DR de sua superfície, fazem-nas se constituir em um dos dois tipos de células selecionadoras de antígenos da superfície externa (DENOON, 1996).

Uma vez que a imunidade do colo uterino mediada por células é considerada de importância primária no controle da infecção por HPV, a diminuição da capacidade celular local em indivíduos imunocomprometidos aumenta a susceptibilidade a infecções graves pelo HPV (SPINILLO *et al.*, 1996). Outros mecanismos biológicos que

podem facilitar os efeitos oncogênicos do HPV são: carga viral alta, persistência da infecção e rapidez da replicação viral, que afetam a imunidade do colo uterino através de um menor número das CL (AHMED *et al.*, 2001).

As CL têm um papel bastante significativo nestas respostas e como estas células podem ser contadas utilizando-se métodos imunohistoquímicos, há possibilidade de uma melhor compreensão do mecanismo biológico da agressão pelo HIV, HPV e outros vírus. Usando modelos de pesquisa com macacos *rhesus*, Miller (1998) mostrou que as CL são as primeiras que são infectadas pelo vírus da imunodeficiência dos símios e que as Células Dendríticas (CD) são importantes reservatórios do vírus, o que foi corroborado por Hu *et al.* (1998). Sabe-se que as CL têm um papel muito importante na transmissão do HIV (HUSSAIN *et al.*, 1992).

Em mulheres normais, as CL estão muito concentradas na cérvix, vagina e vulva, podendo fagocitar antígenos (como os vírions do HIV). A endocérvix tem uma maior proporção de linfócitos, monócitos e CL em relação à ectocérvix (LEVINE *et al.*, 1998) e se concentram mais em direção à camada basal (MORELLI *et al.*, 1992). Sabe-se ainda que quando comparada ao prepúcio, a cérvix tem menor susceptibilidade às infecções por HIV, mesmo tendo 10 vezes menos CL, além de quatro vezes menos receptores CD4+ e duas vezes menos macrófagos (PATTERSON *et al.*, 2002).

Embora as lesões HPV-induzidas sejam caracteristicamente doença de mulheres jovens, os níveis de CL não mostraram nenhuma idade-dependência (VAYRYNEN *et al.*, 1984). Em indivíduos imunocompetentes existe uma diminuição das CL na fase de pós-cauterização de ectopias de colo uterino em relação à fase pré-cauterização (CÂMARA, 1991), na presença de infecção por HPV (MORRIS *et al.*, 1983b; MC ARDLE & MULLER, 1986; AL-SALEH *et al.*, 1995), bem como nas tabagistas

(POPPE *et al.*, 1996). Mulheres sexualmente ativas têm mais CL ativadas que aquelas sem vida sexual ativa (PATTERSON *et al.*, 2002), mas o uso de anticoncepcionais orais parece não influenciar na sua densidade (UCHIMURA *et al.*, 2005).

Entretanto, mulheres HIV-soropositivas têm menos CL no colo uterino e quanto maior a gravidade do estágio da AIDS, menor a quantidade delas. A associação HIV/HPV afeta as CL, impedindo o organismo de lutar contra o HPV e aumentando a prevalência e gravidade das lesões HPV-induzidas (SPINILLO *et al.*, 1993).

Alguns autores encontraram uma densidade maior de CL no colo uterino de mulheres portadoras de NIC (MORRIS *et al.*, 1983b; CAORSI & FIGUEROA, 1986; MC ARDLE & MULLER, 1986; ABDOU *et al.*, 1999) como resposta imune contra células neoplásicas, mas outros autores utilizando técnicas diversas de contagem de CL, parecem concordar que há uma diminuição das CL em colos uterinos com NIC (TAY *et al.*, 1987; HAWTHORN *et al.*, 1988; VIAC *et al.*, 1990; MORELLI *et al.*, 1993; AL-SALEH *et al.*, 1998; CONNOR *et al.*, 1999). Na vulva, quando existe infecção pelo HPV, as CL estão quatro vezes menos concentradas (MARTINEZ, 1997). Connor *et al.* (1999) acreditam que há possibilidade da menor densidade das CL no colo uterino ser devida a defeitos na proteína S-100 e não simplesmente uma diminuição de células para causar a supressão imune, pois autores que usaram OKT6 (anti CD1a+) não encontraram alteração na contagem de CL ou observaram até mesmo um aumento destas células, porém sabe-se que as células S-100 evidenciam melhor os processos dendríticos das CL que são fundamentais para a sua identificação (LEVI *et al.*, 2005). Através de biópsias de colos normais e de colos com NIC, Hawthorn *et al.* (1988) mostraram que há uma correlação entre a diminuição de CL e um número moderado a alto de cópias de HPV-16. A mesma correlação pode ser observada, embora em menor magnitude, entre a redução das CL e o

HPV-18. A ausência de HPV associou-se a alta densidade de CL e a maioria das NIC tem focos de células infectadas pelo HPV. Isto sugere que o potencial oncogênico do HPV-16 e HPV-18 pode ser mediado por um efeito específico na resposta imune. Não foram observadas diferenças nos marcadores imunológicos entre as lesões benignas pelos HPV-6 e HPV-11 nem nas lesões oncogênicas pelos HPV-16 e HPV-18.

A ausência de expressão dos antígenos virais nas células de NIC associada a uma queda na expressão HLA-DR nas células infectadas, forçam o epitélio escamoso a funcionar como Células Apresentadoras de Antígenos (APC), que são células altamente específicas processadoras de antígenos e que têm a função de exibir seus fragmentos peptídicos da superfície celular juntamente com moléculas necessárias para a ativação linfocitária como: linfócitos B, monócitos (incluindo macrófagos e células dendríticas) e vários outros tipos de células que apresentam o antígeno sob uma forma reconhecível pelos linfócitos T (DE CASTRO & VON ZUBEN, 2001). Isto pode facilitar a queda no desempenho imunológico e contribuir para a gravidade destas lesões (VIAC *et al.*, 1990).

Usando um painel de anticorpos monoclonais, Morris *et al.* (1983a) observaram que em comparação com o tecido epitelial cervical normal, os colos infectados por HPV sem NIC, tinham uma diminuição importante de CL e linfócitos T. As CL remanescentes perdiam seu processo dendrítico normal e ficavam confinadas à proximidade da membrana basal. Em outro trabalho envolvendo pacientes com NIC, Morris *et al.* (1983b) verificaram que o epitélio cervical tinha uma quantidade maior de CL e um aumento dos linfócitos T, tanto intraepitelial como estromal. Estes achados sugerem que existe uma diferença na resposta imune do hospedeiro entre estas duas condições e pode

explicar o motivo das verrugas genitais persistirem no epitélio, enquanto as NIC frequentemente estão associadas a uma reação linfóide

Barberis *et al.* (1998) compararam a resposta imune local em dois grupos de mulheres com NIC. Um dos grupos era HIV-positivo com HPV e o outro grupo positivo apenas para HPV. Foram realizados 16 cones (oito em cada grupo). Os cones das HIV-soronegativas foram considerados controles. Foi realizada contagem de CL, receptores CD4+ e CD8 em 10 campos (3.120 mm²). A média de CL mostrou-se muito reduzida nas NIC de pacientes HIV-soropositivas quando comparada com o grupo controle ($p=0.001$). O número de linfócitos T CD4+ e a razão CD4+/CD8 estiveram correlacionados com a mesma observação no sangue periférico ($p=0,001$ e $p=0,002$). Os autores concluíram que provavelmente há uma deficiência de imunidade no colo uterino que pode favorecer a progressão das NIC em mulheres HIV-soropositivas.

Rosini *et al.* (1996) compararam células imunocompetentes intraepiteliais e estromais do colo de mulheres HIV-soropositivas com espécimes de colo uterino de mulheres HIV-soronegativas, ambas com NIC de alto-grau ou CCUI. As CL e os macrófagos estiveram reduzidos em todas as pacientes HIV-soropositivas, enquanto a redução de linfócitos T só foi encontrada em pacientes imunocomprometidas (contagem periférica de linfócitos T CD4++ e células T menor que 500 células por mm²). A infecção por HIV parece levar a uma deficiência de imunorreatividade, principalmente por deficiência nos mecanismos apresentadores dos antígenos. Este é um mecanismo que pode explicar o aumento na freqüência de NIC e a agressividade dos CCUI em mulheres HIV-soropositivas.

As observações de Olaitan *et al.* (1996) em mulheres HIV-soropositivas foram de que há uma redução significativa de CL, tanto na periferia como na

submucosa, com aumento na contagem de linfócitos T, evidenciando alteração na proporção de células imunocompetentes da cérvix. Para eles isto pode explicar as razões pelas quais mulheres HIV-soropositivas têm mais infecções por fungos, vírus e outros microorganismos, mesmo quando a função imune periférica está intacta.

Primariamente se aceitou que as CL eram infectadas pelo HIV da mesma forma que as células T (via receptor CD4+). Estudos subsequentes mostraram que os anticorpos anti-CD4+ não bloqueavam a infecção pelo HIV nas CL. Embora os receptores CD4+ estejam presentes nas CL, provavelmente não é importante para o HIV infectar estas células. Acredita-se ainda que o tropismo das CL seja também muito importante para a transmissão heterossexual do HIV (DENOON, 1996).

Diante de toda a controvérsia e de lacunas na elucidação dos mecanismos da imunidade no colo uterino é importante estudar melhor as CL, até porque a maturação das CD pode ser manipulada através de substâncias farmacológicas de maneira que aumente a geração de células T reguladoras, importantes na resposta imune específica (HARDIN, 2005). É possível também que anticorpos para CD sirvam como agentes terapêuticos potenciais e medicamentos que bloqueiem a maturação destas células tenham aplicação no tratamento e diagnóstico de doenças infecciosas agudas e em condições inflamatórias crônicas, além da perspectiva da produção de vacinas (STOLER & SCHIFFMAN, 2001; KLAES *et al.*, 2002; BANCHEREAU *et al.*, 2003; HART, 2005; SHUTTER *et al.*, 2007).

A pesquisa da densidade de CL no colo uterino de mulheres HIV-soropositivas portadoras de NIC poderá ser importante para melhorar o rastreio do CCUI, seja alongando, amudando ou mantendo o intervalo de exames preventivos em relação à

população normal, pois a presença destas células no colo uterino pode demonstrar o estado imunológico local.

Nossa intenção é de testar se existe uma maior ou menor densidade de CL em pacientes HIV-soropositivas portadoras de NIC de alto grau em relação às portadoras de NIC de baixo grau, visando contribuir com mais dados sobre a participação da imunologia na evolução das neoplasias do colo uterino. A compreensão do real papel desempenhado por estas células na fisiopatologia da infecção conjunta HIV/HPV poderá permitir avanços no desenvolvimento de métodos eficazes de profilaxia e/ou tratamento dessas infecções bem como sua participação na evolução das lesões menos graves para lesões mais avançadas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - O CÂNCER CÉRVICO-UTERINO INVASIVO (CCUI)

Os dados sobre o CCUI continuam expressivos e se constituem em um grave problema de saúde pública (SILVA, 2004; SILVEIRA & SANTOS, 2005) Apenas em 2002, perto de 500.000 mulheres no mundo tiveram diagnóstico de CCUI (metade das quais morreram da doença), o que representa aproximadamente 15% de todos os cânceres femininos (FERLAY *et al.*, 2005; PARKIN *et al.*, 2005; SANKARANARAYANAN & FERLAY, 2006). Em 2002 o CCUI só foi superado pelo câncer de mama no mundo inteiro (FERLAY *et al.*, 2005). Mais de 80% dos casos de CCUI ocorrem em países em desenvolvimento, muito embora essa incidência esteja distribuída diferentemente entre esses países. Na Índia é cerca de 4,5 vezes maior que na China (FERLAY *et al.*, 2005). As taxas mais altas de incidência são observadas em países sub-Saarianos, na Melanésia, América Latina e Caribenha e sul e sudeste da Ásia. Na África, cinco dos sete países com a mais alta incidência se situam na região leste africana e sub-Saariana (FERLAY *et al.*, 2005). Em alguns países em desenvolvimento, atualmente as taxas são geralmente baixas (menores que 14,5/100.000). Este padrão é relativamente recente, entretanto antes da introdução de programas de rastreamento nos anos 60 e 70, a incidência na maioria dos países europeus, América do Norte e Austrália/Nova Zelândia eram similares aos encontrados hoje nos países em desenvolvimento (por exemplo: a incidência de CCUI nos Estados Unidos em 1959 era 38/100.000). Atualmente taxas muito baixas são encontradas

na China (6,8/100.000), oeste da Ásia (5,8/100.000), sendo a mais baixa em Ardabil, norte do Irã (0,4/100.000) (PARKIN *et al.*, 2005). Já na América do Sul é de 28,6 por 100.000. No Brasil, os dados de 2005 revelam que esta incidência é de 22,1/100.000 e a taxa de mortalidade é de 4,6/100.000, provavelmente devido ao diagnóstico ser feito em fases avançadas da doença (SILVA, 2004). De acordo com Cordeiro & Costa (2006), mais de 70% dos casos são diagnosticados na etapa mais produtiva da vida dessas mulheres, com custos terapêuticos elevados e baixa possibilidades de cura .

Se compararmos os dados nacionais com os dados da Suécia, onde a incidência é de 9/100.000 mulheres por ano (ARNHEIM, 2005), verificamos que localmente (Recife – PE - Brasil) esta incidência é cerca de dez vezes maior, com taxas de 83,2/100.000 mulheres (LORENZATO *et al.*, 2001).

Estas diferenças nas taxas de incidência e prevalência provavelmente se devem aos diversos fatores de risco para o CCUI, a programas governamentais de rastreamento, a oferta e possibilidade de tratamento da doença e qualidade de registro de dados (BRASIL, 2000; ARNHEIM, 2005).

Do ponto de vista financeiro, verifica-se que nos EUA a prevenção e tratamento do CCUI custam aos cofres públicos cerca de 26 mil dólares por 1000 mulheres (INSINGA *et al.*, 2004). A maior parte destes fundos é destinada à cobertura feita pelos exames preventivos (WILEY & MASONGSONG, 2006).

A maioria dos casos da doença é encontrada em mulheres que nunca foram rastreadas (e que teriam portanto, risco de 3 a 10 vezes maior de desenvolverem a doença) ou que se submeteram ao exame há muitos anos. Entre as que habitualmente se submetem ao exame preventivo, as falhas no processo são identificadas em três situações:

1) Falha na condução dos casos diagnosticados, 2) A progressão das lesões pode ter acontecido no intervalo do tempo preconizado para a realização do exame e 3) Atipias podem estar presentes embora não tenham sido identificadas através do teste citológico (CORDEIRO & COSTA, 2006).

A falha na condução (ou abandono do tratamento pela paciente ou perda do seguimento) é verificada em especial nos locais onde a população apresenta maiores restrições econômicas e menor escolaridade, como em Pernambuco.

Já a progressão das lesões resultam em tumores de início e crescimento rápidos, que surgem dentro de três anos após uma citologia comprovadamente negativa (“tumores de intervalo”) e são mais frequentes em mulheres jovens (CORDEIRO & COSTA, 2006).

A falta de identificação de atipias ocorre por erros na colheita do esfregaço – grande maioria dos casos – ou na leitura das lâminas. Outros fatores, como fadiga e carga excessiva de trabalho também podem influenciar no desempenho do profissional escrutinador. Presença de sangue, exsudato inflamatório excessivo, artefatos de fixação, coloração ou montagem de lâminas, colo uterino não visualizado corretamente durante o procedimento ou presença de lesão pequena inacessível à colheita, também são aventados como causas de erros (CORDEIRO & COSTA, 2006; FRANCO *et al.*, 2006).

O intervalo entre os exames pode ser estendido para cada dois ou três anos, baseado nos fatores de risco da mulher e resultados anteriores de rastreamento. Acredita-se que, mesmo que o exame citológico só possa ser realizado a cada dez anos, reduzirá a incidência de CCUI em dois terços (CORDEIRO & COSTA, 2006).

As últimas diretrizes do American College of Obstetrician and Gynecology (ACOG) e da American Câncer Society (ACS) preconizam que o rastreio citológico comece aos 21 anos ou três anos após o início da atividade sexual (o que acontecer primeiro). Em mulheres com mais de 70 anos, de comum acordo com o médico, o rastreamento pode ser interrompido na presença de três exames citológicos negativos consecutivos, desde que não haja citologia com atipia nos dez anos precedentes. Já as mulheres com história de CCUI, as imunocomprometidas, as HIV-soropositivas ou as que foram expostas ao dietilestilbestrol devem ser rastreadas anualmente, independentemente da idade e durante toda a vida (SASLOW *et al.*, 2002).

Na tentativa de modificar este quadro de mortes por CCUI, preconiza-se a implementação precoce e ampliação do acesso das mulheres de alto risco aos programas de rastreamento do CCUI e de suas lesões precursoras (NIC) (CORDEIRO & COSTA, 2006)

2.2 - NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL (NIC) E PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV)

Em 1976 (MEISELS & FORTIN, 1976) analisando exames de Papanicolaou de portadoras de displasias cervicais, descreveram células escamosas aumentadas, multinucleação, hipercromasia, halos perinucleares, anofilia e mudanças disceratóticas, e as chamou de coilócitos (MEISELS & FORTIN, 1976). Dois anos após, Laverty et al (1998), usando microscopia eletrônica, encontraram partículas virais em duas pacientes, uma imunodeprimida por transplante renal e outra de rotina ginecológica e atribuíram ao vírus do condiloma. A Gissmann & Zür Hausen (1980) couberam, através de biologia molecular, isolar e caracterizar os primeiros tipos de HPV em NIC (HPV tipo 6).

Várias pesquisas já foram publicadas confirmando o papel do HPV na patogênese do CCUI e nas NIC (WRIGHT & RICHART, 1990; ZUR HAUSEN, 1991; SCHIFFMAN, 1992). Mais de 90% das NIC apresentam algum tipo de HPV, enquanto que citologias sem NIC apresentam hibridização positiva para HPV em menos de 10% dos casos. Comparando os tipos de HPV, ficou claro que assim como condiloma subclínico e NIC 1 são correspondentes clínica, biológica e molecularmente, assim o são NIC 2 e NIC 3. Isso coloca a classificação histológica de NIC de acordo com a classificação citológica para as neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC) de Bethesda (2001), ou seja, NIC de baixo grau (condiloma subclínico e NIC 1) e NIC de alto grau (NIC 2 e 3).

A tipagem dos vírus das lesões de baixo grau mostrou heterogeneidade, pois foi observado que 29% das lesões continham HPV-16, HPV-18 e HPV-33 (considerados de alta oncogenicidade), 15% continham HPV-6 e HPV-11 (considerados de baixa oncogenicidade) e o restante uma miscelânea de tipos não caracterizados. Apesar disso, menos de 1% das NIC de baixo grau progride para o carcinoma *in situ*, e mais de 50% delas evoluem para a cura espontânea. Já 89% das NIC de alto grau contêm HPV-16, HPV-18 e HPV-33, e apenas 7% apresentavam múltiplos tipos (LUNGU *et al.*, 1992; RICHART & WRIGHT, 1992; BORGES *et al.*, 2004).

As lesões produzidas pelo HPV tendem a desaparecer espontaneamente. O desaparecimento após 12 meses é de 70% e depois de 18 meses é de 80% (HILDESHEIM *et al.*, 1994), mas desaparecem mais lentamente em mulheres maiores de 35 anos (DILLNER, 2001) e nas HIV-soropositivas (SUN *et al.*, 1997; HANKINS *et al.*, 1999; JAY & MOSCICKI, 2000). Um sistema imune competente é de extrema importância para este desaparecimento, mas outros fatores também são evidenciados nessa persistência. O HPV-16 e seus variantes persistem por mais tempo (HILDESHEIM *et al.*, 2001), mas a variante E6 do gene do HPV-16 não está relacionada à carcinogênese cervical (VAN DUIN *et al.*, 2000). Num coorte realizado em estudantes norte-americanas o uso de anticoncepcionais pelas não-brancas aumentou o risco de adquirir HPV-16, o que sugere que fatores étnicos podem estar envolvidos na propagação de variantes deste tipo viral (XI *et al.*, 2002). Quanto maior a carga viral do HPV, maior a chance de ter lesões mais graves de NIC (YLITALO *et al.*, 2000; VAN DUIN *et al.*, 2002), o que é um dado de difícil interpretação pois a carga viral pode ser a mesma em lesões antigas ou adquiridas

recentemente. Provavelmente outras doenças sexualmente transmissíveis possam agir como co-fatores independentes que contribuem para a persistência do HPV (ARNHEIM, 2005).

O HPV é um vírus desprovido de envelope, de forma icosaédrica, e mede cerca de 55nm. Em seu genoma, possui aproximadamente 8.000 pares de bases de DNA circular de duplo entrançamento. Seu genoma é dividido em Open Reading Frames (ORF), que se encontram na mesma fita de DNA e constituem os genes virais. Os três fragmentos subgenômicos na organização do genoma do HPV até agora identificados são: região precoce ou E (early), região tardia ou L (late) e região não codificada ou LCR (long coding region) (HOWLEY *et al.*, 1991).

Estudos partindo de mulheres virgens apontam para uma evidência de que a infecção pelo HPV é uma doença sexualmente transmissível (RYLANDER *et al.*, 1994; ANDERSSON-ELLSTROM *et al.*, 1996). O uso de condom é fator de proteção (RR = 0,39; 95% CI = 0,16-0,96) para o aparecimento de lesões precursoras do CCUI (HILDESHEIM *et al.*, 2001a). Por outro lado, para a infecção com HPV, o coito com penetração não é imprescindível, pois mulheres que fazem sexo com mulheres podem ser positivas para HPV/DNA (MARRAZZO *et al.*, 2001). O HPV é mais comum em profissionais do sexo (39%) do que em mulheres casadas (14%) (HASSEN *et al.*, 2003).

Mais de 130 subtipos de HPV já foram descritos e mais de 100 aguardam classificação e caracterização. Cerca de 40 infectam o epitélio genital e aproximadamente metade destes são considerados de “alto risco” por conta de sua associação com o CCUI (BOSCH *et al.*, 1995; WALBOOMERS *et al.*, 1999; CLIFFORD *et al.*, 2003; MUÑOZ *et al.*, 2003).

Os de alto risco são os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82 e MM4. Os HPV-16 e HPV-18 são os mais comumente encontrados em infecções cervicais e CCUI no mundo (CLIFFORD *et al.*, 2003; VILLA, 2006) sendo que o HPV-16 está associado a mais da metade dos CCUI, e o HPV-18 está associado a 12% (BOSCH & DE SANJOSE, 2003). Os potencialmente de alto-risco (risco intermediários) são os HPV: 26, 53 e 66. Os de baixo risco são: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 e CP6108. Nos exames preventivos (Papanicolaou) estão associados às lesões de baixo grau (NIC 1), células epiteliais atípicas de significado indeterminado (ASCUS), NIC1 e verrugas genitais.

O vírus do HPV penetra no organismo através de microtraumatismos durante o contato sexual, progride até a membrana basal e atravessa a membrana citoplasmática. O genoma viral é transportado para o núcleo, onde é traduzido e transcrito e se mantém na forma episossomal (LONGWORTH & LAIMINS, 2004). Duas classes de proteínas são codificadas: as transformadoras e as reguladoras. As primeiras induzem funções na célula hospedeira e as outras controlam a expressão dos genes virais (CARVALHO & OYAKAWA, 2000).

Nos casos de NIC e CCUI o genoma do HPV é encontrado no cromossoma das células do hospedeiro (CULLEN *et al.*, 1991). A replicação episossomal e a regulação da transcrição estão relacionadas com os genes E1 e E2 e induzem atipias. Já os genes produtores das proteínas p53 e pRb (supressoras do crescimento tumoral) são inativadas pelos genes E6 e E7. O gene E6 de tipos oncogênicos do HPV integra-se à seqüência do P53, induzindo sua degradação e, conseqüentemente, impedem a reparação do DNA. Em decorrência, surgem os genes mutantes, que são perpetuados, levando à

proliferação celular desordenada, característica das lesões neoplásicas (GREENBLATT *et al.*, 1994). Os anticorpos anti HPV 16 E7 estão fortemente associados ao CCUI (GALLOWAY, 1994). Atribui-se ainda ao gene E7, a capacidade de reduzir a expressão dos antígenos de histocompatibilidade, situados na superfície celular, o que pode explicar (pelo menos em parte) o retardo na resposta do hospedeiro.

Métodos extremamente sensíveis têm detectado a seqüência de DNA do HPV na maioria dos CCUI. Existem tumores verdadeiramente negativos para HPV; o motivo de discussão é se, na verdade, estes tumores se mostram negativos, sendo realmente positivos (WALBOOMERS & MEIJER, 1997). Entretanto, os achados epidemiológicos de que pacientes com NIC sem HPV têm um diferente espectro de fatores de risco, sugerem que pelo menos as doenças intraepiteliais podem aparecer na ausência de infecção pelo HPV (BURGER *et al.*, 1996). Pesquisas mostram que pelo menos teoricamente a mutação do p53 pode ser substituída pela proteína E6, além da evidência da possibilidade de super-expressão da ciclina D. Provavelmente outras anormalidades genéticas possam substituir a expressão do gene do HPV, o que é consistente com a hipótese de que a transformação das células epiteliais – e dessa forma o CCUI – também possam ocorrer por outras vias independentes da infecção pelo HPV (SOUTHERN & HERRINGTON, 1998). Entretanto, a infecção do colo uterino por tipos oncogênicos do HPV tem sido estabelecida como fator de risco para o CCUI por conta de associação muito forte com o CCUI. Esses tipos de HPV são admitidos como fator causal necessário, porém não suficiente, para a etiologia da lesão neoplásica (SILVA, 2004).

O desenvolvimento do CCUI é menos provável na ausência da infecção pelo HPV e de fatores coexistentes que favorecem a persistência da infecção, dentre os

quais, o tabagismo (POPPE *et al.*, 1995; POPPE *et al.*, 1996; SZAREWSKI *et al.*, 2001), o uso de contraceptivos orais (CASTELLSAGUE & MUÑOZ, 2003), antecedente de múltiplos parceiros sexuais (ARENDS *et al.*, 1998), multiparidade (MUÑOZ *et al.*, 2002) e início precoce das relações sexuais (ARENDS *et al.*, 1998). Para Dilner *et. Al* (1996), o fator de risco mais importante parece ser a mudança de parceiro sexual, pois o risco de soroconversão aumenta de 4% para até 32% em relação a cada parceiro mudado. O tempo de permanência menor que oito meses com determinado parceiro aumenta mais ainda este risco (WINER *et al.*, 2003). Além destes fatores, sobressaem-se ainda o baixo nível socioeconômico (O' MALLEY C *et al.*, 2006), o déficit nutricional (LEON CRUZ & FAXAS, 2004), fatores genéticos (ARENDS *et al.*, 1998) e fatores imunológicos, especialmente a AIDS (HALPERT *et al.*, 1986; MATORRAS *et al.*, 1991; HO *et al.*, 1994; CHOPRA & TYRING, 1997).

2.3 PAPILOMAVÍRUS HUMANO, NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL, CARCINOMA CÉRVICO-UTERINO INVASIVO E O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

A alta prevalência de HPV e NIC em mulheres HIV-soropositivas pode ser explicada por uma série de interações entre os dois vírus. Mulheres com lesões cervicais têm uma menor resposta celular proliferativa para as proteínas E6 e E7 do HPV-16 em comparação com mulheres sem lesões, o que evidencia a importância da imunidade mediada por células (HILDESHEIM *et al.*, 1994). Então, a perda da resposta imune mediada por células ao HPV, devida à imunossupressão relacionada ao HIV, deve contribuir em parte para o aumento da prevalência de infecção por HPV e NIC em pacientes HIV-soropositivas. A nível celular, uma interação direta entre HIV e HPV também pode ocorrer. Embora o HPV infecte o epitélio, o vírus do HIV pode ser encontrado nas CL, em células do estroma e infiltrando as células T. Uma secreção anormal de citocinas pelos linfócitos infectados pelo HIV deve também facilitar o aumento do aparecimento das NIC (BERRY & PALEFSKY, 1998).

Uma vez que o HIV e o HPV são transmitidos da mesma maneira e que o HPV pode fornecer um mecanismo para aumentar a transmissão sexual do HIV, se espera que a prevalência do HPV em mulheres infectadas por HIV seja relativamente alta. Um dos maiores estudos sobre HPV em mulheres HIV-soropositivas (HIV Epidemiology Research – HER) mostrou uma prevalência de 68% de presença de HPV, enquanto que o HPV

esteve presente em 28% das mulheres HIV-soronegativas (CU-UVIN *et al.*, 1999). Estudos do Women Interagency HIV Study (WIHS), reforçam esta hipótese. Palefsky *et al.* (1999) *apud* Levine (1999), compararam dois grupos de mulheres, 2015 infectadas pelo vírus HIV e 577 casos não infectados (controles), pareadas por idade, uso de drogas e número de parceiros sexuais. O HPV foi obtido através de lavados cérvico-vaginais, identificados por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). A presença de HPV foi observada em 58% das HIV-soropositivas, enquanto que nas HIV-soronegativas foi de 26%. Um dado preocupante é que a infecção por múltiplos tipos de HPV foi encontrada em 42% de mulheres HIV-soropositivas contra 16% do grupo controle. À medida que a contagem de linfócitos T CD4+ diminuiu, um número maior de mulheres HIV-soropositivas apresentou HPV. Setenta por cento de mulheres com contagem de linfócitos T CD4+ menor que 200 cel/mm² tinham infecção pelo HPV. Estes dados são consistentes com uma alta prevalência de infecção inicial e subsequente reativação, devido ao declínio da imunidade induzida pelo HIV. Uma carga viral alta (>100.000 cópias/mL) também esteve associada com infecção pelo HPV. Assim, entre mulheres com mais de 500 linfócitos T CD4+, 71% das com carga viral além de 100.000 estavam co-infectadas pelo HPV, enquanto que a co-infecção só foi detectada em apenas 44% naquelas com carga viral de HIV menor que 4.000 cópias/mL (CONTI *et al.*, 1993; WRIGHT JR *et al.*, 1994a; LEVINE *et al.*, 1998).

Vários estudos mostram que o HPV perturba a resposta imune normalmente responsável por liquidar a infecção. A resposta imune sistêmica e no colo uterino ao HPV é retardada freqüentemente até meses após o HPV-DNA ser detectado no colo uterino. Algumas mulheres nunca desenvolvem anticorpos (HAGENSEE *et al.*, 2000). A soroconversão do HPV após detecção do HPV-16 está associada a infecções de longa

duração e presença de anormalidades citológicas (HO *et al.*, 1998). Nas pacientes que se curaram de verrugas genitais foram encontrados altos níveis de citocinas inflamatórias e um maior recrutamento de macrófagos, células *natural killer* (NK) e linfócitos T CD4+ ativados, quando comparadas às que não responderam ao tratamento (ARANY & TYRING, 1996). Dados laboratoriais mostram que mulheres cujos linfócitos proliferaram em resposta ao estímulo dos peptídeos E6 e E7 do HPV 16 se curam mais facilmente do que as que não responderam (KADISH *et al.*, 2002)

Vernon *et al.* (1994) mostraram através de percentagem cumulativa que em mulheres infectadas pelo HIV positivas para HPV/DNA houve um aumento na prevalência de HPV numa média de 2,7% ao mês durante um período de 8 meses, diferente de apenas 0,8% nas soronegativas .

Cappiello *et al.* (1997) e Sun *et al.* (1997) não encontraram em mulheres HIV-soropositivas aumento de tipos oncogênicos de HPV nem múltiplos tipos, mas a maioria dos autores tem encontrado maior prevalência de HPV de alto risco nas mulheres HIV-soropositivas quando comparadas às soronegativas (MOSCICKI *et al.*, 1990; VERNON *et al.*, 1994; WRIGHT JR *et al.*, 1994b; REZZA *et al.*, 1997; SUN *et al.*, 1997; MINKOFF *et al.*, 1998; MASSAD *et al.*, 1999; PALEFSKY *et al.*, 1999; VILLA *et al.*, 2002). Por outro lado mulheres HIV-soronegativas fumantes levam um tempo maior para eliminar HPV de alto risco do que as mulheres HIV-soropositivas fumantes (KOSHIOL *et al.*, 2006).

A alta prevalência de HPV em pacientes HIV-positivos é explicada pela tendência do HPV de persistir, em contraste com as pessoas imunocompetentes. O HPV/DNA é 6 a 18 vezes mais susceptível de persistir em soropositivos, principalmente

naqueles cuja contagem de linfócitos T CD4+ é menor de 200 células/mm² (JAY & MOSCICKI, 2000). No primeiro ano de observação o HPV persistiu em 20% das pacientes HIV-soropositivas, enquanto nas soronegativas, apenas em 3% (SUN *et al.*, 1997). Hankins *et al.*(1999) estudaram 83 mulheres co-infectadas por HIV/HPV comparando com 60 soronegativas para o HIV, mas infectadas por HPV e após 12 meses de seguimento houve maior persistência de HPV no grupo das co-infectadas, especialmente de tipos oncogênicos.

A alta frequência de positividade de HPV em todas as faixas etárias de mulheres HIV-soropositivas e a persistência de HPV neste grupo implica que o curso normal de eventos do HPV não ocorre da mesma forma que na população HIV-soronegativa. Mulheres HIV-soropositivas que estiveram sexualmente inativas há pouco, têm mais frequentemente testes HPV positivos (43%) que as soronegativas (19%). Estes achados sugerem que existe mais uma reativação da infecção pelo HPV do que uma nova exposição (JAY & MOSCICKI, 2000).

O aparecimento precoce de CCUI em mulheres HIV-soropositivas, que inclusive pode ser o primeiro sinal da doença, mostra um comportamento agressivo com resposta pobre às terapias tradicionais além de padrões metastáticos diferentes da população HIV-negativa. Em 1993 o CDC revisou a prevenção do CCUI e determinou que o aparecimento precoce de CCUI fosse uma condição definidora de AIDS (Classe C), bem como o aparecimento precoce de lesões de alto grau e de baixo graus (categoria B), exceto as condições sintomáticas A e C (C.D.C., 1993). Entretanto, desde essa época, os estudos epidemiológicos não fornecem base para dar apoio à evidência de aumento na incidência de CCUI nas mulheres HIV-soropositivas. Diferentemente do comportamento dos Linfomas não-Hodgkin e Sarcoma de Kaposi em mulheres HIV-soropositivas, não houve aumento do

CCUI em relação às mulheres HIV-soronegativas (BERRY & PALEFSKY, 1998; ROBINSON *et al.*, 2003).

A relação entre HIV e CCUI é controversa. Dados de vigilância de Hospitais Sentinelas mostrou apenas um aumento discreto (CHIN *et al.*, 1998). Estudos realizados em países desenvolvidos não observaram associação entre CCUI e HIV, a despeito do aumento da incidência da infecção pelo HPV e de NIC em mulheres HIV-soropositivas (WRIGHT JR *et al.*, 1994a; ELLERBROCK *et al.*, 2000). Postula-se que a progressão a partir da NIC até o CCUI deve exceder o tempo médio de sobrevivência, especialmente com o aparecimento de outras doenças oportunistas comuns no terceiro mundo (VERNON *et al.*, 1999).

Na África do Sul e Ruanda não houve aumento do risco de CCUI, mas em Uganda foi observado um risco excessivo (SITAS *et al.*, 2000). Maiman *et al.* observaram que 55% dos cânceres encontrados em mulheres HIV-soropositivas se situavam no colo uterino. Também observaram que o diagnóstico do câncer na maioria das vezes precedeu o diagnóstico do HIV (70% dos casos) (MAIMAN *et al.*, 1997) e a causa da morte é geralmente devida ao câncer, mais do que a doenças oportunistas (PALEFSKY, 2006b). Um aumento de quatro vezes de CCUI entre mulheres HIV-soropositivas foi evidenciado cinco anos antes do diagnóstico da AIDS, mas não houve aumento após esse diagnóstico. Estes achados sugerem que alguns desses aumentos na incidência podem ser fatores de risco diferentes daqueles da infecção pelo HIV e imunossupressão, tais como comportamento de vida, com aumento da atividade sexual e exposição ao HPV (HO *et al.*, 1998).

2.4 - O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA E A NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL

Em pacientes portadores do HIV, fatores imunogenéticos têm um papel preponderante na capacidade da resposta imune para neutralizar a infecção pelo HPV. A presença de certos marcadores de antígenos leucocitários humanos (HLA) está associada ao aparecimento de CCUI e o tempo de regressão das verrugas genitais é menor nestes pacientes (ARENDS *et al.*, 1998). A participação dos linfócitos T é fundamental no mecanismo de vigilância imunológica, promovendo a retirada de células mortas ou atípicas do meio tecidual e impedindo que haja multiplicação exacerbada a partir destas matrizes. Pouco se sabe ainda sobre o aumento da frequência de infecção pelo HPV nas mulheres HIV-soropositivas e sobre o potencial de transformação maligna nas NIC destas mulheres, mas um destes motivos é o *deficit* no número e na função dos linfócitos T (SILVA, 2004). Apesar destas evidências, não existem mudanças significativas nas taxas gerais de mortalidade por CCUI (GARZETTI *et al.*, 1995).

Mulheres que fazem uso de terapia antiretroviral (TARV) têm maior taxa de regressão que de progressão das NIC (MINKOFF *et al.*, 2001), o que parece plausível, pois a TARV reverte a imunodeficiência, com aumento do número de células T CD4+ e também com redução da carga viral (WAGNER *et al.*, 2001). Entretanto, em estudo de Coelho *et al.*, (2004), onde foram classificadas 83 mulheres HIV-soropositivas de acordo com a faixa da contagem dos linfócitos T CD4+ (maior que 500, entre 200 e 500 e

menor que 200) e da carga viral (<10.000, entre 10.000 e 100.000 e maior que 100.000), observou-se que 73% apresentavam contagem de linfócitos T CD4+/mm² menor que 500 células/mm² e em qualquer das faixas de contagem das linfócitos T CD4+, mais da metade apresentavam NIC 1. Quanto à carga viral do HIV, 71,7% das pacientes com carga viral baixa de HIV apresentavam NIC de baixo grau, ao passo que apenas 11,3% apresentavam NIC 3. Já no grupo com maior carga viral (≥ 100.000 cópias/mL), 61,5% apresentaram NIC 1 e 30,8% NIC 3, mostrando assim que houve uma evidência de associação de carga viral do HIV e NIC ($p=0,013$), não sendo observado o mesmo em relação à contagem de linfócitos T CD4+. Achados similares quanto à carga viral do HIV (maior que 400 cópias/mL) apresentam uma chance 3,7 vezes maior de ter NIC (ARAÚJO *et al.*, 2005). Auge *et al.* (2000) também não encontraram associação entre a gravidade de NIC e a contagem dos linfócitos T CD4+. Cardillo *et al.* (2001) compararam dois grupos de pacientes HIV-soropositivas, um sem lesões citopatológicas cervicais e outro com lesões e encontraram uma quantidade significativamente menor de linfócitos T CD4+ no grupo com lesões, sem, no entanto, haver diferença entre as que tinham NIC de baixo grau e as com NIC de alto grau.

A incidência aumentada de NIC em mulheres soropositivas para o HIV, quando comparadas com a população em geral, deve-se em parte à baixa imunidade dessas mulheres, com estimativa de que tais pacientes têm até 40 vezes mais chance de desenvolver NIC do que aquelas não portadoras do vírus (MOODLEY *et al.*, 2006). Mulheres HIV-soropositivas que são submetidas a tratamentos de NIC e CCUI têm uma taxa maior de persistência da doença que as mulheres não infectadas pelo HIV (MAIMAN *et al.*, 1990; MAIMAN *et al.*, 1993; WRIGHT JR *et al.*, 1994b; MAIMAN *et al.*, 1997; CLARKE & CHETTY, 2002; MOODLEY *et al.*, 2006).

A história natural das NIC em mulheres HIV-soronegativas é relativamente previsível. Mais de 70% das lesões de baixo grau regridem e o risco de progressão para CCUI é muito baixo, pelo menos a curto prazo (C.D.C., 1993). Se a maioria das NIC 1 em mulheres soronegativas tem uma maior taxa de regressão que as NIC 3 (57% e 32%, respectivamente) e uma menor taxa de progressão para CCUI (1% e 12% respectivamente), por outro lado, uma pequena percentagem de NIC 1 progride para CCUI (OSTOR, 1993). Não há segurança em se afirmar o mesmo nas mulheres HIV-soropositivas. Por conta disso e da progressão rápida para CCUI (geralmente fatal) há uma tendência de tratamento mais agressivo, embora alguns autores preconizem um seguimento igual ao da população geral (ROBINSON *et al.*, 2002; ROBINSON *et al.*, 2003).

O seguimento de mulheres HIV-soropositivas com NIC é complexo e ligado diretamente à TARV. As mulheres HIV-soropositivas têm duas vezes mais probabilidade de persistência de NIC após tratamento ablativo (conização) em relação às não infectadas pelo HIV. Em mulheres HIV-soropositivas o resultado dos exames citológicos é anormal em cerca de duas vezes, quando comparado aos das mulheres HIV-soronegativas. A falta de resposta ao tratamento da NIC é mais encontrada naquelas mulheres HIV-soropositivas nas quais a TARV não foi satisfatória (GILLES *et al.*, 2005).

A percentagem de exames preventivos anormais em mulheres HIV-soropositivas (5% a 63%) é bem maior que nas HIV-soronegativas (2% a 24%) (WRIGHT JR. & SUN, 1996). Em um outro estudo, 80 de 398 (20%) mulheres HIV-soropositivas tinham algum grau de NIC, 52 (13%) de baixo grau e 28 (7%) de alto grau. Nas HIV-soronegativas foram encontradas 15 mulheres em 357 (4%) com lesão de baixo grau e apenas duas com lesão de alto grau (WRIGHT JR *et al.*, 1994^a). Sabe-se que a persistência

de HPV de alto grau é requisito para desenvolvimento de NIC (HANKINS *et al.*, 1999; JAY & MOSCICKI, 2000). A possibilidade de infecção persistente está relacionada com o grau de imunossupressão e é clara a importância da resposta imune ao HPV (BERRY & PALEFSKY, 1998). Estudo recente realizado na África, encontrou frequência aumentada de alterações celulares e maior prevalência de NIC, mas não houve associação entre a gravidade das NIC e o estado imunológico das pacientes (MOODLEY *et al.*, 2006). De acordo com Tay & Jenkins (1989) e Memar *et al.*(1995) além de fatores imunológicos locais a diminuição das CL pode contribuir para o prolongamento da infecção ou evolução para malignidade.

2.5 - AS CÉLULAS DE LANGERHANS

As Células Dendríticas (CD) hoje são reconhecidas como reguladoras essenciais, tanto do sistema imune inato, quanto do adquirido (BANCHEREAU & STEINMAN, 1998). As CD, além da sua morfologia distinta, têm características fenotípicas e funcionais que as tornam Células Apresentadoras de Antígenos (APC). As CD são responsáveis, sozinhas, pela estimulação das células T-írgens, propriedade esta que as distingue de todas as outras APC. As CD são também células acessórias essenciais na geração de resposta a anticorpos primários. Também estão envolvidas na manutenção da tolerância aos antígenos, onde no timo contribuem para a formação das células T, destruindo linfócitos auto-reativos. Como consequência desta heterogeneidade *in vivo*, sabe-se hoje que as CD são uma família de células cujos membros exercem controle sobre diferentes áreas da imunidade. As CD são originárias da medula óssea, tanto de precursores linfóides como mielóides (ZENKE & HIERONYMUS, 2006). Exemplos de CD *in vivo* incluem as células intersticiais (encontradas no pulmão, coração, fígado e outros órgãos), as células veladas (encontradas nos linfonodos aferentes), as células interdigitantes (encontradas em áreas ricas em células T do tecido linfóide), as células tímicas e as CL (STOCKWIN *et al.*, 2000).

Embora todas as CD sejam capazes de capturar e processar antígenos, são as maduras que se dividem em subtipos indutoras de um leque variado de respostas (YAO *et al.*, 2002). As residentes no epitélio pluriestratificado do colo uterino são as

denominadas células dendríticas “imaturas”, que correspondem à protótipos epidérmicos de CL (KAISERLIAN & DUBOIS, 2001). As CL são estrelares na aparência, com projeções citoplasmáticas foliáceas que incrementam sua íntima interação com as células vizinhas e sua principal função (e dos tipos intersticiais) é a de sentinela imunológica, posicionando-se estrategicamente para deter organismos invasores. As células sentinelas permanecem inativas até que sinais no meio extracelular adjacente (derivados tanto dos micróbios, quanto das células agredidas) induzam uma mudança rápida na função, também conhecida como “ativação”. A ativação induz um número de mudanças importantes nas CL (pelo menos uma migração até o tecido linfóide local) onde elas transmitem informações antigênicas aos linfócitos. Estudos bioquímicos recentes sobre os sinais de ativação e efeitos da ativação das CD forneceram aos pesquisadores esclarecimentos sobre o papel das CD na patogênese das doenças e se é possível utilizar imunoterapia com CD-moduladoras no tratamento de um grande número de doenças, incluindo autoimunidade, alergia, imunodeficiência, rejeição de transplantes, doenças virais persistentes e câncer.

Já os linfócitos T e B são os mediadores da imunidade, mas a sua função está sob o controle das CL. As CL capturam e processam os antígenos na periferia, expressam as moléculas linfocíticas co-estimuladoras, migram para os órgãos linfóides e secretam citocinas, as quais iniciam a resposta imune. Elas não somente ativam os linfócitos, mas também toleram as células T frente aos antígenos inatos ao organismo (auto-antígenos), minimizando assim as reações auto-imunes. Outrora um tipo celular desprezado, as CD hoje podem ser obtidas em quantidade suficiente para permitir análises biológicas moleculares e celulares. À medida que os conhecimentos sobre estas células

progridem, evidencia-se que elas são uma ferramenta importante no controle do sistema imune (BANCHEREAU & STEINMAN, 1998).

Há muito se enfocava a imunidade baseando-se apenas em antígenos e linfócitos. Observou-se depois que as CD se constituíam num terceiro elemento atuante no sistema de APC. Foram primeiramente visualizadas como CL na pele em 1868, mas a sua caracterização só começou há cerca de 35 anos. Sabia-se que células “acessórias” eram necessárias para gerar uma resposta primária de anticorpos em culturas, mas só quando as CD foram identificadas e purificadas a partir de linfócitos contaminados e macrófagos, que se descobriu a real função das APC (BANCHEREAU & STEINMAN, 1998). No desenvolver de uma infecção viral ou de um tumor inicia-se a ativação dos linfócitos T pela apresentação do antígeno ao sistema imunológico. Assim, o mecanismo de apresentação de antígeno viral ou tumoral ao sistema imunológico começa pela sua fagocitose através das CL nas quais o antígeno é processado, associado às moléculas do complexo de histocompatibilidade principal e, a seguir, exposto ao linfócito T específico.

Como evidência da importância das CL junto ao sistema de imunovigilância antitumoral, observou-se estar a sua depleção associada ao aumento de incidência de tumores de epitélio escamoso em pacientes submetidas à irradiação ultravioleta e à corticoterapia (UCHIMURA *et al.*, 2004^a).

As CL podem ser histologicamente coradas por ATP-ase, T6, CD1a, moléculas do complexo de histocompatibilidade classe II, moléculas co-estimuladoras/aderentes, S-100 e outros marcadores (TAY *et al.*, 1987). Já Figueroa & Caorsi (1980) utilizando procedimentos com zinco-ósio-iodado (ZOI) encontraram uma média de 8,3 CL por mm² em colos uterinos normais, com maior densidade nas

proximidades do orifício cervical externo e afirmaram que estas células são um elemento constante na *portio*, dados estes corroborados por estudo recente de Pudney (2005), mas contrários aos achados de Poppe *et al.* (1998), que observaram densidade igual tanto no orifício cervical externo como longe dele.

Mais especificamente, as CL se situam no terço basal do epitélio escamoso e sua densidade é maior nas proximidades da membrana basal, enquanto seu aspecto é mais proeminente na camada superficial (MORELLI *et al.*, 1992). Quando coradas pelo S-100 se distribuem pelo epitélio normal, zona de transformação normal e NIC (GONÇALVES *et al.*, 2004). A densidade das CL no epitélio cervical é maior que na vagina, indicando um indutor localizado da imunidade genital (HO *et al.*, 1998; PUDNEY *et al.*, 2005).

Os trabalhos científicos são conflitantes com respeito às conclusões relativas a como o número de CL varia na presença de NIC de alto e baixo graus, especialmente em mulheres HIV-soropositivas (LEVI *et al.*, 2005). Morris *et al.* (1983a), utilizando peroxidase e diversos anticorpos monoclonais, analisaram grupos de mulheres que se submeteram a biópsia de colo, conizações e histerectomias (em um total de 12 mulheres) e observaram que naquelas portadoras de verrugas genitais havia uma depleção de CL, enquanto que nas que tinham NIC havia um maior número de CL associado a um também aumento das células linfóides estromais e intraepiteliais. No ano seguinte, Vayrynen *et al.* (1984), utilizando anticorpos monoclonais OKT6, observaram 286 mulheres portadoras de HPV por dois anos e verificaram que não houve variação na densidade das CL nesse período, permanecendo esta densidade em níveis baixos (1.5% a 1,9%), com ligeira queda da densidade nas portadoras de NIC (0.8% a 2.1%), sem no

entanto haver diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Caorsi *et al.* (1986), estudando quatro pacientes portadoras de NIC 1, 2, 3 e CCUI, utilizando o mesmo ZIO, encontraram um aumento da densidade das CL nas NIC, mas com uma pequena queda da densidade na área da ectocérvice normal nas paciente com CCUI. Puts *et al.* (1986), só conseguiram demonstrar um pequeno número de CL nos casos de NIC, utilizando a pesquisa de células vimentina-positivas com imunofluorescência indireta de dupla marcação.

A partir daí, os pesquisadores começaram a obter achados similares aos de Puts. Tay *et al.* (1987) e Maddox *et al.* (1989) introduziram o S-100 como marcador confiável. Tay *et al.* (1987) ao estudarem o colo uterino com diversos marcadores (OKT6, ATPase, HLA-DR e S-100), também observaram que, tanto nas infecções por HPV quanto nas NIC, houve redução do número das CL em 60%, enquanto havia depleção completa de células S-100. Para eles, estes achados sugeriam que a depleção seletiva de células S-100 poderia ser causa da imunodeficiência localizada, além da possibilidade da existência de diferentes populações de CL. Em estudos semelhantes, Al-Saleh *et al.* (1995) confirmaram redução do número de CL na Zona de Transformação Normal (ZTN) e nas NIC, independentemente do tipo de HPV causador da infecção. Além disso, o infiltrado celular pelas CL parece ser de considerável importância no prognóstico do CCUI (NAKANO *et al.*, 1989; SPINILLO *et al.*, 1993). Os achados da literatura relacionados a diminuição da densidade das CL no colo uterino correlacionados tanto com a gravidade de NIC quanto com a infecção pelo HPV são vários (HAWTHORN *et al.*, 1988; UCHIMURA *et al.*, 2004b). Para Uchimura *et al.* (2004^a) o epitélio glandular da área de metaplasia parece inibir

a migração das CL, tornando essa área de risco para desenvolvimento de neoplasia não só pelo fato de ser local de instabilidade tecidual, mas também pela menor presença das CL.

De acordo com revisão feita por Nicol *et al.* (2005) a depleção destas células pode ser o resultado do efeito citotóxico do HPV, ou pode decorrer da migração das CL epidérmicas a partir do epitélio até o linfonodo. Existem evidências que podem explicar esta diminuição. Uma possibilidade é que a citotoxicidade do linfócito T seja mediada pela CL infectada pelo HIV o qual pode efetivamente estimular uma resposta-célula T primária, tornando-se alvo do linfócito T citotóxico. Além disso, foi observado que a destruição das células dendríticas foliculares acontece em associação com a carga viral alta do HIV na superfície da CD. Este fato pode ser observado em mulheres que se submetem a TARV, as quais apresentam uma reestruturação destas CD foliculares associada a uma queda da carga viral local. A redução das CL no colo uterino sugere que um distúrbio quantitativo ou qualitativo pode potencialmente interferir na vigilância imunológica em relação as NIC.

Com o incremento na qualidade das técnicas de marcações imunohistoquímicas (SHUTTER *et al.*, 2007), vários autores concordaram com os achados concernentes à diminuição destas células em NIC, HPV, HIV ou na associação destes (MCARDLE & MULLER, 1986; HAWTHORN *et al.*, 1988; SPINILLO *et al.*, 1996; JIMENEZ-FLORES *et al.*, 2006).

A diminuição da densidade das CL está relatada na literatura em colos infectados pelo HPV quando comparada com a densidade nos colos de mulheres normais (UCHIMURA *et al.*, 2004b), mas Morris *et al.* (1983b) e McArdle & Muller (1986) observaram que esta densidade estava aumentada nas portadoras de NIC. Hawthorn *et al.* (1988) também verificaram que, além de aumentar com o grau de NIC, sua densidade

também estava aumentada nas adjacências dessas NIC. Eles também encontraram uma diminuição nesta densidade quando havia cópias em número moderado ou alto de HPV-16, bem como diminuição acentuada quando era HPV-18, mesmo com número de cópias baixo. Para eles, várias subpopulações de CL são conhecidas e há controvérsias sobre como elas são afetadas pelo HPV e NIC. Achados similares com relação ao tipo de HPV foram encontrados por Mota *et al.*(1999).

Fukuda *et al.*(1993) compararam dois grupos de mulheres, um com lesões persistentes de NIC, outro com lesões em regressão, e viram que havia uma redução considerável de células S-100. Morelli *et al.*(1993), obtiveram espécimes de áreas normais e anormais de colos infectados pelo HPV e encontraram que, mesmo naquelas pacientes portadoras de vírus não oncogênicos (6 e 11), havia o mesmo decréscimo de CL que nas portadoras de tipos oncogênicos (16 e 18). Nas áreas sem lesões havia uma diminuição ainda mais acentuada e quando havia NIC mais grave esta densidade aumentava.

Comparando 30 biópsias de mulheres HIV-soropositivas com NIC, com outras 30 biópsias de mulheres soronegativas, Spinillo *et al.* (1993), pareando com o grau de NIC, idade e hábito de fumar e usando coloração S-100 e hibridização in situ para HPV 6/11, 16/18 e 31/33/35, encontraram uma densidade menor das CL nas mulheres HIV-soropositivas, independentemente da presença ou não de HPV. Foi encontrada uma correlação positiva de células S-100 com linfócitos T CD4+ e CD8 nas mulheres HIV-soropositivas. Aquelas que tinham AIDS, tinham menos CL que aquelas outras que eram apenas soropositivas, achados estes novamente encontrados três anos depois em nova pesquisa, avaliando mulheres portadoras de AIDS sem HPV e sem NIC (SPINILLO *et al.*, 1996). Utilizando células S-100, Rosini *et al.* (1996) examinaram 50 mulheres HIV-

soropositivas e encontraram cinco biópsias normais, 19 NIC de baixo grau , 19 NIC de alto grau e 7 casos de CCUI. Compararam então com 50 biópsias de mulheres HIV-soronegativas, pareando para doença cervical, idade, hábito de fumar e número de parceiros sexuais e observaram que as CL estavam diminuídas em cada uma das classes histológicas, sendo a menor densidade nas lesões de baixo grau. Os macrófagos intraepiteliais e estromais (CD68+) também estavam diminuídos, porém todas as mulheres HIV-soropositivas tinham menos CL e macrófagos em relação ao grupo controle. Resultados similares foram encontrados por Levi *et al.* (2005) que utilizando células S-100 e através de análise multivariada encontraram aumento das CL nas NIC de alto grau (média de 3,87) em relação às NIC de baixo grau (2,11), em áreas normais e nas ZTN de pacientes HIV-soropositivas ($p=0,05$). A média de CL em pacientes HIV-soronegativas foi de 4,00 , enquanto nas HIV-soropositivas foi 1,92 ($P=0,01$).

Recentemente (utilizando langerina, CD1a e MHC-CII), Jimenez Flores *et.al.* (2006) encontraram uma redução de aproximadamente 50% na densidade de CL em pacientes portadoras de HPV detectadas por captura híbrida quando comparadas com as HPV negativas.

Além das variações na sua densidade observadas pelos diversos autores, as CL variam também na sua morfologia em diversas pacientes e nos vários estágios de NIC. Este fenômeno pode ser devido a diferentes tipos de HPV, cada qual com seus efeitos citopáticos. Enquanto alguns tipos de HPV levam à proliferação celular, a progressão para NIC e CCUI é mediada também por outros fatores, como o hábito de fumar e a presença de infecção por herpes (GONÇALVES & DONADI, 2004).

Os autores que relatam diminuição das CL em NIC mas sem redução nas células CD1+, sugerem defeito na expressão da proteína S-100 (SCOTT *et al.*, 2001). De acordo com Poppe (1998), muitos dos autores que têm publicado estudos imunohistoquímicos relativos ao colo uterino focam sua atenção nas CL intraepiteliais e nas mudanças no número e distribuição destas células nas NIC e CCUI e os resultados destes estudos quantitativos quase sempre são conflitantes. Observa-se uma ampla variação de densidade de CL por número de células da membrana basal, perda de uniformidade relacionada ao anticorpo usado, diluição variada destes anticorpos, espessura do corte, preparação dos cortes (Cryostat *versus* parafina, lâminas epiteliais *versus* cortes histológicos, biópsia cervical antes e após aplicação do ácido acético etc). Além do que, para De Jong (1986), a configuração dendrítica das CL se constitui num complexo problema metodológico nos estudos quantitativos morfométricos.

Desarranjos estruturais das arquitetura dendrítica e morfologia anormal das CL em condilomas genitais já foram descritas (COLEMAN *et al.*, 1994; MORELLI *et al.*, 1994; STOCKWIN *et al.*, 2000), embora Cooper (1990), ao contrário, estudando tumores de pele, verificou que as CL parecem estar intactas, mesmo em número menor.

Além dos estudos que mostram aumento, manutenção ou diminuição das CL, existem outros que sugerem debilitação funcional destas células em lesões HPV-induzidas, o que também pode contribuir para a persistência da infecção. Estas células, independentemente do seu número ou morfologia, são funcionalmente lábeis e a regulação da sua função depende de inúmeros fatores (YONG & STREILEIN, 1996).

Também parece que o HIV leva a um impedimento precoce da imunorreatividade nas mucosas, tanto reduzindo quantitativamente as CL e macrófagos,

como também levando a um defeito funcional na capacidade antigênica das CL (MACATONIA *et al.*, 1992).

A disfunção das CL pode estar relacionada com a produção de citocinas pelos queratinócitos. Em revisão da literatura, Scott (2001) descreve que após a captura do antígeno pelas CL, a fase de reconhecimento continua com a migração para os linfonodos. As citocinas, fabricadas principalmente pelos queratinócitos (com alguma contribuição das próprias CL), parecem ser mediadores cruciais neste processo. As mais importantes são a IL-1 α e TNF (principalmente produzidos pelo queratinócito) e IL-1 β (principalmente produzida pelas CL), que são promotoras da migração celular das CL e a IL-10, produzida pelo queratinócito, que age como inibidor da migração celular da CL. Outras citocinas, por exemplo o GM-CSF (fator granulócito-macrófago estimulante de colonização) – também produzidos pelos queratinócitos – promovem a inicialização da maturação das CL em CD maduras. Para Mota *et al.* (1999) o aumento no número das CL depende do TNF- α produzido pelos queratinócitos. Uma diminuição do TNF- α ocorre nas infecções pelo HPV, junto a uma queda na expressão da molécula coestimuladora B7.1, resultando numa diminuição da capacidade de apresentação das CL. Autores que verificaram aumento da densidade das CL nas NIC (MORRIS *et al.*, 1983b; MC ARDLE & MULLER, 1986) sugerem que existe uma resposta imune específica direcionada contra neoantígenos associados às transformações celulares malignas.

Uma possível associação entre déficit na produção dessas citocinas e infecção persistente pelo HPV tem sido postulada com base em achados de níveis reduzidos de citocinas (IL-1 α e IL-1 β , TNF, GMCSF e outras) em muitas linhagens HPV-imortalizadas das células cervicais e linhagens de CCUI. Estes achados promovem

evidências preliminares para uma associação entre produção diminuída pelos queratinócitos de várias citocinas e infecção persistente pelo HPV.

Mota *et al.*(1998) demonstraram *in vivo* que a expressão do TNF pelos queratinócitos está ausente em algumas NIC, porém está sempre presente em áreas normais do epitélio estratificado do colo uterino. Além disso, a expressão do TNF foi menor nas NIC de alto grau do que nas de baixo-grau. De modo oposto, a expressão do IL-10 pelo queratinócito esteve presente nas NIC, porém ausente no epitélio normal. Devido à importância destas duas citocinas em regular a função das CL, sugeriu-se que estas alterações podem contribuir para um ambiente alterado de APC nas NIC. Isto também sugere a possibilidade de que o HPV pode escapar da vigilância modulando a produção de citocinas pelo queratinócito infectado, ou alternativamente, os indivíduos com respostas anormais possam estar em maior risco de infecção pelo HPV ou malignidades associadas.

3. DEFINIÇÃO DOS OBJETIVOS

3.1 - Objetivo Geral

- Comparar a densidade de CL no colo uterino de pacientes HIV-soropositivas nos diferentes graus de NIC.

3.2 - Objetivos específicos

1. Avaliar a densidade das CL em colos uterinos de mulheres HIV-soropositivas.
2. Comparar a densidade das CL em colos de mulheres HIV-soropositivas portadoras de NIC de baixo grau com a média das CL de mulheres HIV-soropositivas com NIC de alto grau.
3. Comparar a densidade das CL de mulheres HIV-soropositivas portadoras de NIC em relação à contagem de linfócitos T CD4+ em sangue periférico.
4. Comparar a densidade de CL de mulheres HIV-soropositivas portadoras de NIC em relação à carga viral do HIV.
5. Comparar a densidade das CL em mulheres HIV-soropositivas portadoras de NIC fumantes e não fumantes.
6. Comparar a densidade das CL em mulheres HIV-soropositivas portadoras de NIC usuárias de bebidas alcoólicas com não usuárias de bebidas alcoólicas.
7. Comparar a densidade das CL em mulheres HIV-soropositivas portadoras de NIC segundo sua faixa etária.
8. Comparar a densidade das CL em mulheres HIV-soropositivas portadoras de NIC em relação ao uso ou não uso de tratamento anti-retroviral.
9. Comparar a densidade das CL em mulheres HIV-soropositivas portadoras de NIC em relação à oncogenicidade do HPV.

4. SUJEITOS E MÉTODOS

4.1 - DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo observacional analítico, no qual foram comparadas as densidades das CL em mulheres HIV-soropositivas com NIC de alto grau nas mulheres com NIC de baixo grau. O estudo tem estrutura de caso-controle, mas devido a controvérsias sobre a relação temporal entre alterações na densidade das CL e NIC, optou-se por não utilizar a terminologia “caso-controle”.

4.2 POPULAÇÃO ALVO

Mulheres HIV-soropositivas portadoras de NIC, usuárias do SUS, da região metropolitana de Recife, que foram atendidas no Centro Integrado de Saúde Amaury de Medeiros (CISAM) referendadas pelo HCP, HOC, IMIP e por demanda espontânea no SAE/CISAM.

4.2.1 Critérios de Inclusão

- Ter procurado o ambulatório do CISAM/UPE.
- Ter idade entre 18 e 45 anos.
- Ser portadora do HIV.
- Ter diagnóstico de NIC citológico e/ou histológico.

4.2.2 Critérios de Exclusão

- Gravidez
- Sangramento genital
- CCUI
- Ter se submetido a amputação do colo uterino

5 TIPO DE AMOSTRAGEM E DEFINIÇÃO DO TAMANHO DA AMOSTRA

- Um contingente de 56 pacientes HIV-soropositivas com alterações citológicas e/ou histológica de NIC.
- Foram utilizados os seguintes parâmetros para cálculo
 - Power 80%
 - Erro alfa 5%
 - Erro beta 20%
 - Os cálculos foram realizados através do programa Episcope 2.0
- Utilizamos como referência os dados de Levi *et al.*(2005), que estudaram 101 pacientes (67 com NIC de baixo grau, 12 com NIC de alto grau e 22 normais/metaplásicas):
 - Média de CL no grupo de baixo grau: 2,02
 - Média de CL no grupo de alto grau: 3,9
 - Desvio padrão: 2,8
- O tamanho requerido foi de 37 pacientes para cada uma das duas amostras independentes.

6. Definição e categorização das variáveis

Variável	Definição operacional	Categorização
Caso	Mulheres HIV-soropositivas portadoras de NIC 2 ou NIC 3 (alto grau) referidas para o CISAM a partir dos serviços de referência para HIV da rede SUS	
Controle	Mulheres HIV-soropositivas portadoras de NIC 1 e/ou HPV (baixo grau) referidas para o CISAM a partir dos serviços de referência para HIV da rede SUS	
Idade	Anos de vida completos	a) ≤ 20 b) 21 a 30 c) 31 a 40 d) ≥ 40
Grau de Instrução	Baseado no grau máximo obtido na educação formal	Sabe ler e escrever: Completo o 1o. grau Completo o 2o. grau Curso pré-vestibular Curso superior - graduação Mestrado ou doutorado

		Não concluiu nenhum curso
Tabagismo	História de tabagismo pregressa ou atual	1-nunca fumou 2-ex-fumante 3-fumou até 1 ano antes da pesquisa 4-fumante - fuma atualmente
Número de cigarros por dia	Quantidade de cigarros fumados por dia, em unidades	1 - < 1 2- 2 a 10 3- 11 a 20 4- \geq 21
Etilismo	Classificação de usuárias de bebidas alcoólicas classificadas de acordo com a quantidade de drinks ingeridos por dia, semana ou mês, pelos critérios da OMS.	Abstêmia Bebedora leve Bebedora pesada Dependente
Tratamento para AIDS	Uso de anti-retrovirais	1 – não 2 – sim
Carga viral do HIV	Resultado da quantificação das partículas do RNA viral que estão sendo produzidas e lançadas na circulação	1- < 400 (indetectável) 2 - entre 400 e 1000 3 - > 1000

	sanguínea mais próximo da consulta ginecológica (intervalo máximo de 6 meses).	
Contagem das CL	Média das CL coradas imunohistoquimicamente por mm ² em corte histológico horizontal.	Resultado em células por mm ²
CD4+	Resultado da contagem da subpopulação linfocitária de receptores CD4+ medida por citometria de fluxo (células por mm ²), mais próxima da data da consulta (intervalo máximo de 6 meses).	<ol style="list-style-type: none"> 1. < 200 2. entre 200 e 499 3. ≥500
Nadir do CD4+	Menor contagem da subpopulação linfocitária de receptores CD4++, medida por citometria de fluxo (células por mm ²) dentre todas as contagens realizadas na paciente.	<ol style="list-style-type: none"> 1. < 200 2. entre 200 e 499 3. ≥500
Oncogenicidade do HPV	Tipo do HPV implicado em maior risco para	<ol style="list-style-type: none"> 1. Alto risco

	desenvolver NIC/CCUI de acordo com o IARC (CLIFFORD <i>et al.</i> , 2003)	<ol style="list-style-type: none"> 2. Intermediário 3. Baixo risco
Terapia anti-retroviral (TARV)	Uso de medicações anti-retrovirais	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sim 2. Não

7. Processamento e Análise dos Dados

A digitação dos dados foi realizada em computador compatível com PC/IBM, com dupla entrada, utilizando o programa Epi2000 (versão 3.3.2) para o banco de dados e o programa SPSS (versão 12.0) para análise estatística.

Foram calculadas as médias e o desvio padrão da contagem das CL e para comparação das médias foi usado o teste de Kruskal-Wallis. Para verificar a presença de correlação, foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman.

8. Aspectos Éticos

- O projeto da pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CISAM em 29 de outubro de 2003 (ANEXO 1)
- As mulheres assinaram termo de consentimento lido e esclarecido, aprovado pela mesma. (ANEXO 2), de acordo com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e responderam entrevista padronizada (ANEXO 4). Às que não concordaram em participar foi-lhes garantido o mesmo atendimento e tratamento.
- O resultado das biópsias foi fornecido às mulheres pelo investigador e anexada uma cópia ao seu prontuário, bem como naquele momento foi realizada uma explicação do seu significado e garantida a continuidade do seu tratamento no Serviço de Patologia Cervical do CISAM nos limites de sua capacidade técnica.

- Os dados serão armazenados pelo pesquisador durante cinco anos para eventual comprovação.

9. Métodos de coleta

- A carga viral do HIV e CD4+ foram obtidos pelos Serviços de origem das mulheres (HCP, HOC, IMIP, CISAM) através de coleta sanguínea periférica com seringa e agulha hipodérmica, obedecendo ao intervalo de três meses para o seguimento de pacientes HIV-soropositivos.
- A entrevista foi realizada previamente à consulta utilizando questionário padronizado (ANEXO 3), quando também foi lido e esclarecido o Termo de Consentimento (ANEXO 2), que quando aprovado, foi devidamente assinado.
- Foi realizada nova coleta de citologia com escova para a endocérvice e espátula de Ayre para a ectocérvice.
- A colposcopia foi realizada pelo próprio pesquisador utilizando colposcópio da marca Leisengang.

A biópsia das lesões colposcópicas atípicas foi realizada com pinça de Gaylor-Medina e o tamponamento, quando necessário, com gaze esterilizada. O fragmento da biópsia foi enviado para histopatológico em solução de formol a 10%, onde foram fixados e desidratados com álcool etílico, xilol e envolvidos em blocos de parafina. Foram feitos cortes histológicos, com micrótomo regulado para cinco micrômetros. Após montagem em lâmina de vidro identificada, foi realizada coloração pela coloração de hematoxilina-eosina, sendo as lâminas analisadas sob microscopia óptica. Para o diagnóstico de NIC, foram considerados os critérios baseados no Sistema Bethesda (BEREK, 2003).

10. Padronização das técnicas

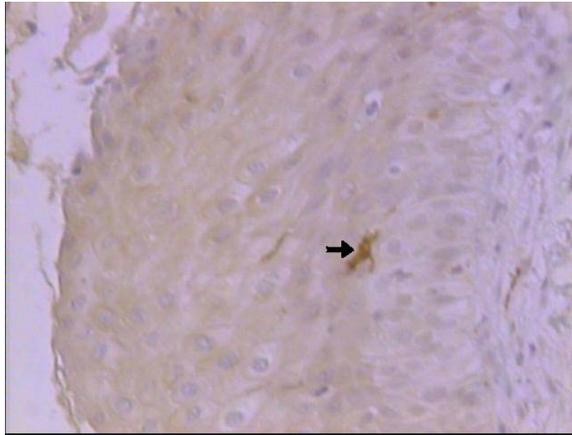
10.1. **Histopatologia** – Os fragmentos foram mantidos em formol a 10% e cortados numa espessura de 4µm, corados pela hematoxilina-eosina e posteriormente submetidos à análise por uma médica patologista do CISAM, devidamente qualificada e titulada pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica.

10.2. **Imunohistoquímica** – Foi realizada no Laboratório de Patologia do Hospital do Câncer de Pernambuco pela equipe do Prof. Luciano Montenegro.

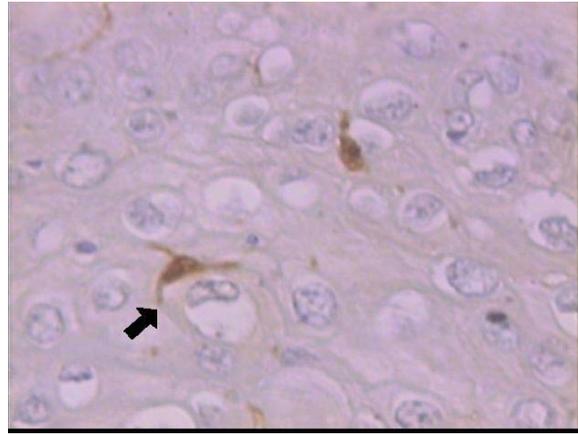
10.2.1. **Processamento** - O material foi imerso em parafina, cortado numa espessura de 4µm e montado em lâminas previamente tratadas com APES (3-aminopropiltriétoxissilane da SIGMA^R cod. A 3648) para fixar o tecido (JENKINS *et al.*, 1987; MADDOX *et al.*, 1987). Os cortes permaneceram em estufa a uma temperatura de 56° C até serem processados. Os cortes histológicos para identificação das CL foram submetidos a método imunohistoquímico do PAP (peroxidase-antiperoxidase). A desparafinização das peças foi realizada com xilol e álcool absoluto, lavadas com água destilada e tampão de fosfato sódico (PBS) , metanol e H₂O₂ durante 20 minutos para bloquear a peroxidase endógena, novamente lavadas com PBS, colocadas numa solução tampão e água destilada e levadas ao forno de microondas por 20 minutos em potência máxima, com repouso de 20 minutos dentro, e 5 minutos fora do forno. Foram lavadas então com PBS e água corrente para posterior incubação em geladeira em câmara úmida a 4° C adicionando previamente a cada corte o anticorpo primário antiproteína S-100 (DAKO^R Company cod. Z311) na diluição de 1:1000 em PBS com 10% de soro normal

de porco para bloqueio da reação cruzada (DAKO^R Company cod. X901). Após 24 h de incubação as lâminas foram lavadas com PBS e colocadas em câmara úmida durante 45 minutos à temperatura ambiente, sendo adicionado ao tecido o anticorpo de porco anti-coelho. a 1:250 (DAKO^R Company cod. Z196), novamente lavadas com PBS e mais uma vez colocadas em câmara úmida por 30 minutos e acrescidas do complexo PAP para coelho. Após esse período foram re-lavadas com PBS e submetidas a revelação com uma solução de DAB (diaminobenzina tetraidroclorido) + 0.003% de H₂O₂ em PBS e submetida a processo de contracoloração por hematoxilina rápida, desidratação com álcool absoluto e xilol e montagem das lâminas.

10.2.2. **Contagem das CL** - Foi realizada na Universidade Federal de Pernambuco pelo Prof. Diógenes Luis da Mota, usando um sistema de morfometria MOP-Vídeo Plan da Kontron^R Electronic Group, adaptado a um microscópio de luz marca Olympus modelo BH2 com aumento de 400X.. O examinador não teve conhecimento das características da amostra e esta contagem foi determinada como a média de células positivas por mm² de um corte horizontal histológico do epitélio cervical em ambos os grupos. As CL foram identificadas utilizando anticorpos contra antígenos S-100 e os critérios necessários para a sua identificação foram que estas células deveriam possuir ramificações e processos dendríticos característicos além do núcleo central (Fig. 1, 2, 3 e 4).



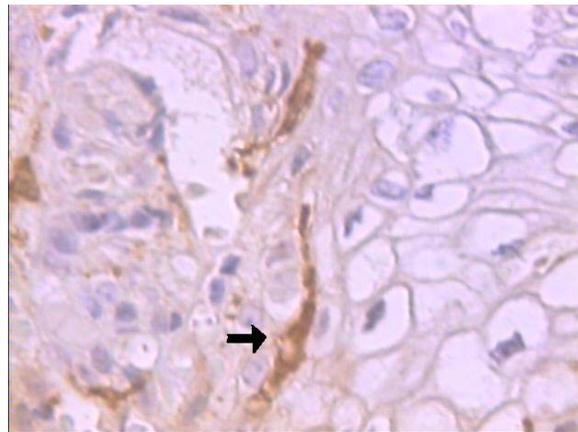
a



b



c



d

Figura 1 – Imunohistoquímica de biópsia cervical de paciente HIV-soropositiva. a) Biópsia cervical corada com anticorpo anti-antígeno S-100 mostrando CL localizada imediatamente acima da camada basal (100 X) b) CL envolvendo célula binucleada (200 X) c) A seta escura aponta para o núcleo da CL e a seta branca mostra uma das projeções dendríticas (400 X) d) CL junto a vários coilocitos. A seta escura aponta para o núcleo da CL. (400X)

10.3 - Extração do DNA da amostra: Fragmentos de biópsia cervical medindo 0,4mm² foram macerados e incubados por aproximadamente 18 h a 65°C em solução de proteinase K (USB 76230Y, Ohio/USA) a uma concentração final de 2µg/µl. A inativação da Proteinase K foi feita a uma temperatura de 94°C por 10 min. A solução de DNA foi centrifugada a 12.000 rpm em uma microcentrífuga refrigerada (Eppendorf, modelo 5415R) e estocada a 4°C.

10.4 - Reação em Cadeia da Polimerase (PCR): A qualidade do DNA extraído foi avaliada pela capacidade de amplificação do gene humano constitutivo *gpdH* (que codifica a enzima gliceraldeído fosfato desidrogenase). A reação de PCR foi preparada em um volume final de 25µl contendo 1x tampão da Platinum *Taq* (Invitrogen, São Paulo/Brasil), 1,5mM MgCl₂, 200µM dNTP's, 1,0 µM de inicializadores específicos para amplificação do gene *gpdH* e 1,0 unidade de Platinum *Taq*, e 2µl da solução de DNA genômico. A seqüência parcial do gene L1 de HPV foi amplificada com os inicializadores MY09 e MY11, que por serem degenerados permitem a síntese desta seqüência a partir de DNA de vários tipos virais. A reação de PCR foi preparada em um volume final de 25µl contendo 1x tampão da Platinum *Taq* (Invitrogen), 2,8mM MgCl₂, 200µM dNTP's, 0,4 µM dos inicializadores MY09 e MY11 e 1,25 unidades de Platinum *Taq*, e 2µl da solução de DNA genômico. As condições de reação foram 94°C por 5 min; seguidos de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 min, anelamento a 55°C por 40 seg e extensão a 72°C por 45 seg, e finalmente, um ciclo de 72°C por 10 min. Como controle positivo da reação foi utilizada uma amostra de paciente portador de HPV diagnosticado através de captura híbrida e como controle negativo, a reação na ausência de amostra. O produto amplificado foi visualizado em gel de agarose a 2,0 %

em tampão TAE corado com 0,5µg/µl de brometo de etídeo sob luz ultravioleta e fotografado com máquina polaróide GelCam (Figura 2 e 3). Amostras positivas para *gpdH* e negativas para MY09 e MY11 foram re-amplificadas e analisadas em gel de poliacrilamida corado pela prata, visando aumentar a sensibilidade de detecção visual.

10.5 - Tipagem de HPV. O fragmento amplificado ou produto de PCR foi digerido com cada uma das seguintes enzimas: *Hinf* I, *Pst* I, *Hae* III, *Dde* I, *Rsa* I, *Sau* 3A e *Bam* HI a 37°C por 18 horas. O produto da digestão foi submetido à eletroforese em gel não desnaturante de poliacrilamida a 10% em tampão TBE, a 70V por 2,5 h. O gel de poliacrilamida foi incubado por 5 min sob agitação em 25 ml de solução fixadora (83,3 ml de álcool etílico + 3,33 ml de ácido acético para 500 ml de água) acrescida de 250 µl da solução de nitrato de prata a 20%. O gel foi lavado rapidamente com água corrente e incubado com 25 ml de solução reveladora (11,25g de NaOH para 500 ml de água) aquecida adicionada com 250 µl de formaldeído 37% até o surgimento das bandas. A reação é parada com adição da solução fixadora. O gel foi colocado entre duas folhas de celofane e deixado secar por 24 horas. A tipagem do vírus foi determinada pela análise do padrão de bandeamento observado após as digestões enzimáticas e comparada com aquele publicado por Kaneshima *et al.* (2001). As amostras com digestão parcial e aquelas que apresentaram padrão de bandeamento não conhecido foram submetidas à sequenciamento.

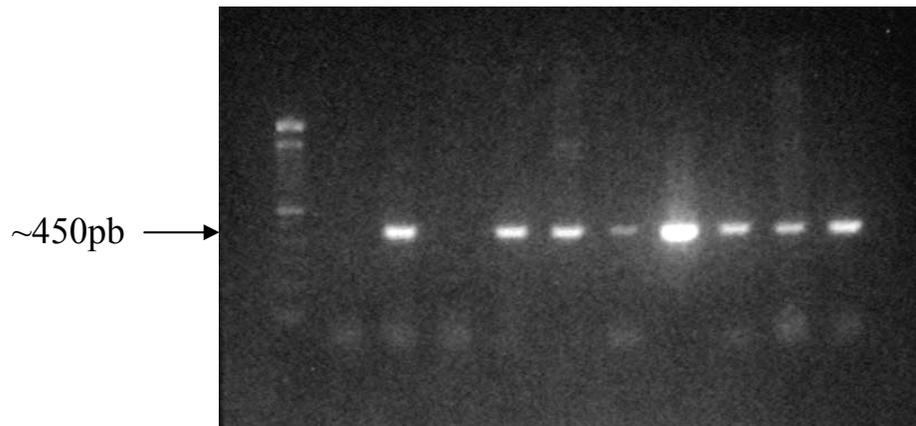


Figura 2 - Amplificação da seqüência do gene L1 de HPV a partir de biópsia de tumores de colo uterino com inicializadores MY09 e MY11. As amostras foram submetidas a eletroforese em gel de agarose a 2,0% como segue: Poço 1-PM100pb, 2-TU32, 3-TU33, 4-TU34, 5-TU35, 6-TU36, 7-TU38, 8-TU39, 9-TU40, 10-TU41, 11-TU42.

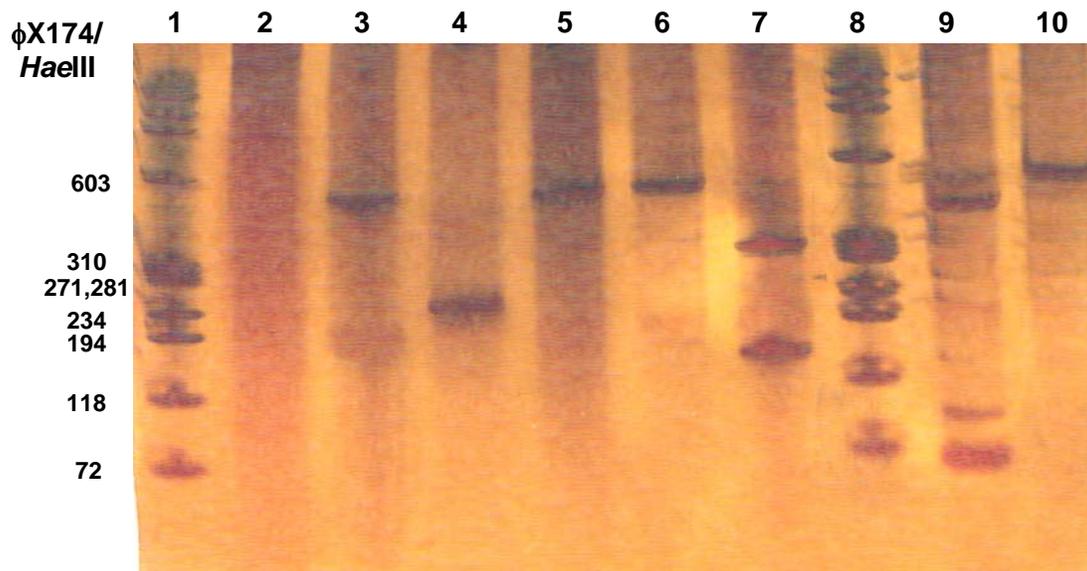


Figura 3. Tipagem de papiloma vírus pela técnica PCR-RFLP. Gel de poliacrilamida a 10% corado com a prata para visualização do padrão de bandeamento dado pela digestão com enzimas de restrição do produto de PCR para o gene L1 de HPV a partir de biópsia de tumor de colo uterino do caso 17 com inicializadores MY09/MY11. Poços 1 e 8, peso molecular ϕ X174/*HaeIII* ; 2, Fragmento de PCR não digerido ; 3-7, 9 e 10, Fragmento de PCR digerido com as enzimas *HinfI*, *PstI*, *HaeIII*, *DdeI*, *RsaI*, *Sau3A* e *BamHI* respectivamente.

10.6 - Sequenciamento: Nas situações em que não foi possível identificar o tipo do HPV pela técnica PCR-RFLP, o fragmento amplificado do gene L1 do HPV foi removido do gel de agarose e submetido a purificação com o kit Sephaglas™ BandPrep (Amersham Pharmacia Biotech, USA) como recomendado pelo fabricante e submetido ao sequenciamento. A reação de sequenciamento foi preparada com 10 fg do produto de PCR purificado, 3,2 pmol do primer, 0,5 µl do reagente “Bigdye” (Applied Biosystem, São Paulo/Brasil), 1 µl do reagente “Save money” (200mM of Tris-HCl, pH 9.0 plus 5mM of MgCl₂). As condições de reação foram 1 ciclo a 96°C por 2 min seguidos de 35 ciclos a 96°C por 45 seg, 50°C por 30 seg e, 60°C por 4 min. As seqüências foram determinadas pelo equipamento Genetic Analyzing ABI 3100 de 96 capilares (Applied Biosystem) e analisadas através do programa BlastN do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

11 RESULTADOS

A caracterização da amostra está apresentada de acordo com a seguinte seqüência: dados socioeconômicos, demográficos e reprodutivos, dados relativos a tabagismo e etilismo, dados referentes ao HIV, ao HPV e demais resultados diagnósticos concernentes aos vírus e ao estado imunológico. A densidade das CL é analisada e comparada aos dados que possam estar relacionados ao estado imune dos grupos estudados.

11.1 - CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

No ambulatório do Hospital Correia Picanço foram realizadas 494 consultas ginecológicas em mulheres portadoras de HIV/AIDS com o respectivo encaminhamento das mesmas ao CISAM para exame colposcópico e citológico, e em pacientes oriundas do Serviço de Atendimento Especializado (SAE) do próprio CISAM/UPE, no período de março de 2005 a março de 2006. Nesse contingente, resultou 56 pacientes com alterações colposcópicas que foram biopsiadas. Um resultado de biópsia com CCUI não foi incluído no estudo, pois se enquadrava nos fatores de exclusão. Os dados serão apresentados em tabelas a seguir.

A TABELA 1 mostra a distribuição destas pacientes de acordo com dados socioeconômicos e demográficos. Em relação à faixa etária das mulheres estudadas

houve uma variação de 19 a 49 anos, com média de $30,3 \pm 7,6$ anos, mediana de 30 anos e moda de 25 anos.

No momento da entrevista 56,3% das mulheres eram casadas ou viviam com o parceiro, chamando a atenção para 5,5% de viuvez e 3,6% de separação ou divórcio. As solteiras somavam 29,1%.

Quanto ao grau de instrução houve predomínio daquelas que completaram ou estavam cursando o primeiro grau (48,1%), seguidas das que não terminaram nenhum curso (40,4%), das que terminaram o segundo grau (11,5%) e 20,8% que não sabiam ler nem escrever. Nenhuma mulher estava fazendo curso pré-vestibular ou superior. O rendimento do chefe da família foi menor que trezentos reais (aproximadamente US\$ 150) em 65,4% das mulheres.

TABELA 1 – Distribuição das mulheres de acordo com dados demográficos e socioeconômicos.

Características	<i>n</i>	%
Idade		
- 18 a 20	4	7,3
- 21 a 30	23	41,8
- 31 a 40	21	38,2
- ≥ 41	5	9,1
Total*	53	96,4
Estado Civil		
- solteira	16	29,1
- casada	7	12,7
- vive junto	24	43,6
- separada / divorciada	2	3,6
- viúva	3	5,5
Total**	52	94,5
Procedência		
- Recife e região metropolitana	44	83
- interior	9	17
Total*	53	100
Sabe ler e escrever		
- sim	42	79,2
- não	10	20,8
Total**	52	100
Qual curso concluiu		
- primeiro grau	24	48,1
- segundo grau	6	11,5
- nenhum curso	22	40,4
Total**	52	94,5
Rendimento do chefe da família		
- menos de 100 reais	2	3,6
- 100 a 300	33	61,8
- 300 a 999	9	16,4
- 1000 a 1999	1	1,8
- mais que 2000	2	3,6
- Não informou	5	9,1
Total**	52	94,5

*Sem dados de 2 mulheres

**sem dados de 3 mulheres

A TABELA 2 mostra a distribuição das mulheres de acordo com os hábitos de fumar cigarros (Tabagismo) e beber bebidas alcoólicas (Etilismo). Quanto ao tabagismo, 38 mulheres eram não-fumantes (69,0%). Dentre as não fumantes, 41% já haviam fumado antes (metade delas por mais de dez anos), entretanto a maioria já havia parado de fumar há mais de 10 anos. Em relação ao consumo de cigarros, a maioria fumava menos de dez unidades ao dia.

Quanto ao etilismo, apenas 25,5% eram abstêmias, enquanto que 69% faziam uso de bebidas alcoólicas, sendo que 56,4% eram bebedoras leves, 10,8% bebedoras pesadas e apenas uma mulher (1,8%) era dependente do álcool (em tratamento).

TABELA 2 – Distribuição das mulheres quanto aos hábitos de fumar e de beber bebidas alcoólicas.

Hábito	<i>n</i> *	%
Tabagismo		
- fumantes	14	25,5
- não fumantes	38	69,0
Total	52	94,5
Etilismo		
- abstêmias	14	25,5
- bebedoras leves	31	56,4
- bebedoras pesadas	6	10,8
- dependentes	1	1,8
Total	52	94,5

* Sem dados de 3 mulheres

A TABELA 3 mostra a distribuição da amostra de acordo com dados relativos à contaminação pelos vírus do HIV e do HPV. A maioria das mulheres acha que se contaminou através de relações sexuais (75,5%), porém uma mulher acredita que adquiriu através de transfusão sanguínea e uma outra através de objetos cortantes. Trinta e

oito mulheres (70,4%) faziam uso de TARV e 38 tinham a contagem de linfócitos T CD4+ menor que 500 células por mm² (69,1%), sendo que 11 tinham menos que 200 células por mm² (20%). A carga viral foi indetectável em 24 mulheres (43,6%).

O resultado das biópsias realizadas nas mulheres com colposcopias ou citologia anormais foi normal/metaplásica em 20 mulheres (36,4%), enquanto que lesões de baixo grau foram encontradas em 24 (43,6%) e as de alto grau em 11 (20%).

TABELA 3 – Distribuição das mulheres de acordo com dados relativos à contaminação pelo HIV, HPV e dados laboratoriais concernentes ao estado imunológico.

Contaminação viral e estado imunológico	<i>n</i>	%
Como acha que adquiriu		
Relações sexuais	39	75,5
Objetos cortantes	1	1,9
Transusão sanguínea	1	1,9
Não sabe	11	20,8
Total**	52	94,5
Contagem CD4+		
<200	11	20,0
entre 200 e 500	27	49,1
>500	17	30,9
Total	55	100,0
Nadir do CD4+		
<200	16	29,1
entre 200 e 499	25	45,4
>500	14	25,5
Total	55	100,0
Carga Viral		
Indetectável	24	43,6
Detectável	31	56,4
Total	55	100,0
TARV		
Sim	38	70,4
Não	16	29,6
Total*	54	100,00
Diagnóstico histocitológico		
Normal ou metaplásico	20	36,4
Baixo grau	24	43,6
Alto grau	11	20,0
Total	55	100,0
Oncogenicidade do HPV †		
Alta	24	43,6
Baixa	7	12,7
Intermediária	1	1,8
Total	32	58,1

* Sem dados de 1 mulher

** Sem dados de 3 mulheres

† A pesquisa do HPV foi negativa em dez mulheres. Em 12 amostras positivas o tipo do HPV não foi identificado por problemas técnicos. Uma amostra foi extraviada.

11.2 - ANÁLISE DAS MÉDIAS

Para realizar os cálculos de comparação das médias de CL foi necessário verificar se essas médias tinham distribuição aproximada do normal. Para isso foram realizados os testes de Kolmogorov-Smirnov, tomando como referência a principal variável de comparação, que foi o diagnóstico histocitológico (normal/metaplásico, NIC de baixo grau e NIC de alto grau) (Tabela 4).

TABELA 4 - Teste de Normalidade (Kolmogorov-Smirnov)

Diagnóstico	Estatística	Grau de liberdade	<i>p</i>
Normal/metaplásico	0,16	18	0,20
Baixo Grau	0,27	24	0,00
Alto grau	0,26	10	0,06

Como o resultado sugere distanciamento da curva de distribuição normal, optou-se pelo uso do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para as comparações. Para verificar a presença de correlação, foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman.

A TABELA 5 mostra a densidade das CL em relação a idade, tabagismo, alcoolismo e escolaridade. Não houve diferença estatisticamente significativa quando à densidade de CL foi comparada com as diversas faixas etárias ($p=0,35$), tabagismo ($p=0,58$), etilismo ($p=0,76$) e grau de instrução, com relação ao fato de saber ler ou escrever ($p=0,67$) e ter concluído ou não algum curso escolar ($p=0,38$).

TABELA 5 - Distribuição da densidade das CL em relação à idade, tabagismo, etilismo e escolaridade

Características	n (=52)*	Média das CL	Desvio Padrão	p Kruskall- Wallis	IC a 95%	
					Min	Max
Idade				0,35		
<20	4	1,53	2,65		0,51	8,1
Entre 21 a 30	23	2,02	1,46		1,39	2,65
31 a 39	18	1,69	1,66		0,86	2,52
≥ 40	5	2,86	1,82		0,59	5,1
Total**	50					
Tabagismo				0,58		
Sim	14	1,97	1,92		0,86	3,08
Não	35	1,95	1,52		1,43	2,48
Total***	49					
Etilismo				0,76		
Abstêmias	13	1,89	1,69		0,86	2,92
Bebedoras leves	30	1,88	1,55		1,3	2,46
Bebedoras pesadas	5	2,4	2,27		0,43	5,23
Dependentes	1	3	-		-	-
Total***	49					
Sabe ler e escrever				0,67		
Sim	39	1,92	1,64		1,39	2,46
Não	10	2,09	1,68		0,88	3,29
Total***	49					
Qual curso concluiu				0,38		
Primeiro grau	22	1,85	1,63		1,13	2,57
Segundo grau	6	2,13	0,86		1,23	3,04
Não concluiu	21	2,12	1,83		1,27	2,47
Total***	49					

* Três lâminas não foram lidas devido a problemas técnicos

** Sem dados de duas mulheres

*** Sem dados de três mulheres

Na TABELA 6 observamos que não houve diferença estatisticamente significativa quando se comparou a média das CL com a contagem das células T CD4+ ($p=0,08$), nadir das células T CD4+ ($p=0,30$), carga viral ($p=0,77$) e uso de TARV ($p=0,37$). Percebe-se que houve um aumento do número de CL em relação à contagem de

células T CD4+ quando utilizamos o teste de correlação de Spearman ($p=0,08$), pois o valor da p foi próximo ao ponto de corte utilizado na pesquisa ($p=0,05$).

TABELA 6 - Distribuição da densidade das CL em relação às características laboratoriais da infecção pelo HIV.

Características do HIV	n (=52)*	Média das CL	DP	p Kruskall- Wallis	IC a 95%	
					Min	Max
Contagem CD4+				0,08		
<200	10	3,05	2,03		1,60	4,50
entre 200 e 499	26	1,64	1,33		1,08	2,18
>500	16	1,60	1,51		0,82	2,34
Total	52					
Nadir do CD4+				0,30		
<200	15	2,45	1,95		1,37	3,53
entre 200 e 499	24	1,58	1,31		1,03	2,14
>500	13	1,90	1,7		0,82	2,97
Total	52					
Carga Viral				0,77		
detectável	24	1,94	1,78		1,25	2,73
indetectável	28	1,87	1,52		1,29	2,45
Total	51					
TARV				0,37		
Sim	35	2,08	1,74		1,49	2,68
Não	16	1,6	1,25		0,88	2,32
Total**	51					

* Não foi possível a leitura de três lâminas por problemas técnicos

** Sem dados de uma mulher

A Tabela 7 mostra o resultado da tipagem do HPV através de PCR. Em dez mulheres a pesquisa do HPV foi negativa (23,8%), apesar delas terem diagnóstico citológico ou colposcópico de lesão HPV-induzida. Dentre as positivas, predominou o tipo 16 (18,7%), seguida pelo 31 (12,5%) e pelo 58 (9,3%). Sete mulheres apresentaram HPV de baixo risco (21,9%) e apenas uma era portadora de HPV do tipo intermediário (HPV-

53), mas nesta mulher não foi possível quantificar as CL por razões técnicas. Em doze amostras não foi possível a identificação do HPV pela técnica PCR-RFLP, sendo estas submetidas a sequenciamento (ver pág. 72, item 10.6).

TABELA 7. Tipagem do HPV das 55 mulheres HIV-soropositivas submetidas a biópsia de colo uterino.

Caso	PCR HPV	Tipagem HPV	Risco
1	neg	neg	-
7	neg	neg	-
10	neg	neg	-
11	neg	neg	-
16	neg	neg	-
20	neg	neg	-
27	neg	neg	-
32	neg	neg	-
34	neg	neg	-
44	neg	neg	-
47*	pos	3	Baixo
33	pos	11	Baixo
51*	pos	11	Baixo
4*	pos	16	Alto
9*	pos	16	Alto
15	pos	16	Alto
42	pos	16	Alto
53	pos	16	Alto
17	pos	16	Alto
2	pos	18	Alto
28*	pos	18	Alto
21	pos	31	Alto
35	pos	31	Alto
56*	pos	31	Alto
30*	pos	31	Alto
19	pos	33	Alto
45	pos	35	Alto
22	pos	52	Alto
41	pos	53	Intermediário
24	pos	56	Alto
14	pos	58	Alto
26	pos	58	Alto
12	pos	58	Alto
38	pos	61	Baixo
37	pos	61	Baixo
40*	pos	61	Baixo
8*	pos	62	Baixo
13	pos	68	Alto
23	pos	69	Alto
50*	pos	82	Alto
52	pos	MM4	Alto
54*	pos	MM4	Alto
43	pos	-	-
48	pos	-	-
6	pos	-	-
18	pos	-	-
49	pos	-	-
5	pos	-	-
3	pos	-	-
36	pos	-	-
29	pos	-	-
31	pos	-	-
25	pos	-	-
55	pos	-	-
46**	-	-	-

* amostras submetidas a sequenciamento

** amostra de tumor perdida

A TABELA 8 mostra a densidade das CL de acordo com as características do HPV. As CL estiveram mais concentradas à medida que o diagnóstico histocitológico se agravou, mas esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,69$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias das CL em relação à oncogenicidade do HPV ($p = 0,88$).

TABELA 8 – Distribuição das CL de acordo com o diagnóstico histocitológico e as características laboratoriais do HPV

Características do HPV	n	Média das CL	DP	p Kruskall-Wallis	IC a 95%	
					Min	Max
Diagnóstico histocitológico				0,69		
Normal ou metaplásico	18	1,67	1,42		0,96	2,38
Baixo grau	24	1,94	1,83		1,14	2,73
Alto grau	10	2,23	1,58		1,10	3,36
Total*	52					
Oncogenicidade do HPV				0,88		
Alta	24	2,17	1,71		1,45	2,89
Baixa	6	2,10	2,26		0,01	4,19
Total**	30					

* Não foi feita a contagem das CL em três lâminas por problemas técnicos.

** Duas lâminas não foram lidas por problemas técnicos, uma das quais pertencia à única mulher na qual foi detectado HPV do tipo intermediário.

12 DISCUSSÃO

A densidade das CL em colos uterinos de mulheres HIV-soropositivas foi pequena em relação aos dados da literatura referentes a colos uterinos de mulheres HIV-soronegativas (FIGUEROA & CAORSI, 1980; PUDNEY *et al.*, 2005), embora tenha sido observado um aumento nessa densidade à medida que havia um diagnóstico mais grave de NIC sem diferença estatisticamente significante ($p=0,65$). Quando a média das CL de mulheres HIV-soropositivas portadoras de menos de 200 linfócitos T CD4+/mm² foi comparada com a média encontrada nas mulheres acima desta contagem, houve também um aumento das CL sem diferença estatisticamente significante, mas o p (0,08) foi próximo ao ponto de corte deste estudo (0,05). Observamos ainda que existiu aumento no número de CL à medida que o número de linfócitos T CD4+/mm² era menor ($p=0,08$), utilizando o coeficiente de correlação de Spearman.

Vários cuidados foram tomados para aumentar a confiabilidade dos nossos resultados e evitar distorções dos mesmos.

Um dos erros possíveis seria aquele que ocorre quando os resultados das mensurações se encontram distribuídos em torno do real valor do evento mensurado, mas sem predileção por um dos lados. Este erro é chamado de aleatório (ou casual) e é geralmente causado por tamanho amostral inadequado (PEREIRA, 2001). Procuramos utilizar nossos parâmetros com base em estudos anteriores e tentamos evitar este tipo de erro utilizando os cálculos descritos no item 5 (pág. 58).

Os erros não-aleatórios (ou vieses) ocorrem quando as medidas estão constantemente desviadas para um dos lados, seja para mais, seja para menos, em seu valor real. Quando ele ocorre, é possível que dilua uma associação verdadeira ou mesmo inverta a direção de uma associação (PEREIRA, 2001). Existem duas classes de erros sistemáticos. O viés de seleção é um deles e poderia ter ocorrido se a amostra tivesse características diferentes da população de origem

Vários mecanismos podem levar a vieses de seleção. Estes poderiam ter ocorrido se as mulheres se recusassem a participar do estudo ou a se submeterem a algum dos procedimentos requeridos. Não houve recusa de participação no estudo porque a biópsia é um procedimento de rotina nos casos em que existam alterações colposcópicas e as mulheres estão conscientes deste fato quando vão se submeter à colposcopia, pois existe esclarecimento prévio. Também tentamos mostrar às pacientes a importância de participar da pesquisa, não só para si como para outras pacientes portadoras da doença. Um outro problema é que nem todas as mulheres referidas chegaram até o local da pesquisa e foram consideradas como perdas. Estas poderiam ter características diferentes daquelas que compareceram. Procuramos distribuir vales-transporte para que as dificuldades do deslocamento físico fossem minimizadas.

Vale salientar que o HCP (principal Serviço de Saúde onde as mulheres foram selecionadas) é responsável por mais de 50% dos diagnósticos, tratamento e acompanhamento de portadores do HIV no estado de Pernambuco.

Uma outra classe de erro sistemático se constitui nos vieses de informação e observação, os quais incluem qualquer erro na medida de informação durante a exposição ou seguimento (HENNEKENS, 1987).

O erro de classificação pode ser diferencial e não-diferencial. O erro de classificação diferencial pode exagerar ou subestimar um efeito e o não-diferencial ocorre quando a classificação da exposição ou efeito é incorreta para uma proporção semelhante de indivíduos nos grupos comparados. O erro não-diferencial geralmente ocorre em direção à hipótese da nulidade, não é uma ameaça à validade do estudo e seu efeito (se o erro existir) seria o de subestimar a magnitude e o valor das associações encontradas (XIMENES & ARAÚJO, 1995). Na nossa pesquisa provavelmente não houve erro de classificação diferencial, uma vez que todas as pacientes eram HIV-soropositivas, e quando foi aplicado o questionário elas não sabiam se eram portadoras de HPV/NIC ou NIC 2/NIC3. Foi aplicado questionário padronizado e no momento da sua aplicação o entrevistador também não sabia em qual grupo do estudo a mulher estaria e a leitura das lâminas em relação às CL foi feita sem o conhecimento do estágio da NIC.

Erro de classificação ocorre quando os indivíduos são categorizados erroneamente quanto à exposição ou ao efeito. No nosso estudo, a biópsia cervical poderia não ser uma amostra representativa de toda a situação cervical, porém a colposcopia é um método bastante confiável para dirigir a biópsia. A lâmina correspondente à biópsia foi lida pelo patologista do Serviço, o qual é devidamente capacitado e qualificado pela Sociedade Brasileira de Patologia.

Outra possibilidade de erro de classificação poderia advir do uso de coloração imunohistoquímica das lâminas para contagem das CL. Esta identificação no epitélio cervical é efetuada atualmente utilizando tanto a proteína S-100, quanto a CD1a. A proteína S-100 é uma proteína que se liga ao cálcio e que está presente em vários tipos de tecido e foi primeiramente notada em CL da pele por Cocchia (1981). Embora a proteína S-100 não seja específica para CL ela é útil para revelar os processos dendríticos das CL, os

quais são únicos para este tipo celular nesta localização (LEVI *et al.*, 2005). As células S-100 positivas representam 35% a 40% do total de CL (TAY *et al.*, 1987). Escolhemos usar a proteína S-100 como forma de evitar viés de informação e também por conta dos consistentes resultados em outras pesquisas similares à nossa (SPINILLO *et al.*, 1993; AL-SALEH *et al.*, 1995; ROSINI *et al.*, 1996; LEVI *et al.*, 2005). A quantificação das células imunomarcadas com proteína S-100 tem sido realizada usando tanto critérios morfométricos, quanto técnicas de contagem direta. A morfometria pode aumentar a objetividade da contagem individual das CL, mas requer computadores potentes e softwares complexos. Dentre os critérios não-morfométricos, inúmeros autores têm contado as CL usando campos de 400X, 250X e 200X e alguns usam a contagem por mm² (CONNOR *et al.*, 1999). Utilizamos na nossa pesquisa um sistema morfométrico (descrito na pág. 66, item 10.2.2) e a contagem foi realizada utilizando um padrão de células por mm² com aumento de 400X devido à sua fácil exequibilidade e pela possibilidade de “mascarar” o histologista quanto ao grau de NIC na lâmina.

Um outro dado que poderia induzir a erro, é relativo à presença de coilocitose. Gonçalves *et al.*(2004) relata que os tecidos com lesões HPV-induzidas têm coilócitos e a coilocitose é uma condição que diminui as células S-100. É possível que estas discrepâncias nas contagens das CL possam acontecer por conta dos níveis de coilocitose em diferentes amostras. No estudo de Spinillo (1993), o número de mulheres com coilocitose foi grande. Em nosso estudo, a presença de coilocitose foi critério citológico para lesão HPV-induzidas de baixo grau, logo, todas as mulheres com HPV e NIC 1 tinham coilocitose (n=24), as normais (ou com metaplasia), não (n=20). As de alto grau tiveram menos coilocitose, pois quanto mais grave a lesão menos coilócitos.

Procurou-se minimizar os erros acima descritos através de contagem padronizada das CL, além de basear-se em variáveis conhecidas na literatura, permitindo grupos balanceados através da adoção dos critérios de inclusão.

A média de CL no colo uterino de mulheres HIV-soropositivas observada por campo do microscópio foi de 1,90 células/mm² (mediana de 1,45), praticamente idêntica à encontrada por Levi *et al.* (2005), que foi de 1,92 células/mm². A semelhança deste achado é importante, uma vez que na literatura o trabalho de Levi *et al.* é o que tinha maior tamanho amostral ($n=84$).

Uma vez que estas mulheres pudessem ter uma diminuição da imunidade com o aumento da idade (além da imunodeficiência causada pelo HIV), as médias das CL foram comparadas nas diversas faixas etárias. Com relação à faixa etária, não houve diferença estatisticamente significante, embora o grupo de mulheres com idade maior/igual a 41 anos tenha tido quase o dobro da média de CL (2,86 células/mm²) em relação ao grupo de mulheres com idade menor igual a 20 anos (1,53 células/mm²). As mulheres com mais de 30 anos tiveram praticamente a mesma média de CL que as com idade menor que 30 anos. A ausência de variação nas diversas faixas etárias já foi observada por outros autores (VAYRYNEN *et al.*, 1984; JIMENEZ-FLORES *et al.*, 2006). Por outro lado, Ushimura *et al.* (2004a) observaram que houve uma tendência a diminuição das CL em mulheres com mais de 30 anos.

Não houve diferença estatisticamente significante ($p=0,58$) na densidade das CL nos diferentes graus de NIC em mulheres HIV-soropositivas não fumantes (média de 1,97 células/mm²) em relação às fumantes (média de 1,96 células/mm²). Vários autores relacionam o hábito de fumar à diminuição de CL no colo uterino (BARTON *et al.*, 1988; BARTON *et al.*, 1989; POPPE *et al.*, 1995; DERCHAIN *et*

al., 1996; POPPE *et al.*, 1996; SIERRA-TORRES *et al.*, 2003; NADAIS *et al.*, 2006) e um número menor de CL existe mesmo naquelas que pararam de fumar (SZAREWSKI *et al.*, 2001). Entretanto, Campaner *et al.*(2006) não observaram diminuição das CL em portadoras de NIC 3 fumantes e não fumantes.

Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparamos abstinências, bebedoras leves, bebedoras pesadas e dependentes do álcool ($p=0,76$), embora a média de CL fosse progressivamente maior à medida que as pacientes tivessem um grau mais avançado de consumo de álcool. Também não houve diferença estatisticamente significativa quando agrupamos as abstinências e bebedoras leves em um grupo e o comparamos a outro grupo composto pelas bebedoras pesadas e dependentes ($p=0,98$). Não foi encontrada na literatura nenhuma pesquisa que associasse etilismo à densidade das CL no colo uterino, mas em um estudo realizado com biópsias de língua de pacientes fumantes e/ou consumidores de álcool, não houve diferença estatisticamente significativa com relação ao uso de álcool, porém detectou-se uma interação significativa no sentido de diminuir as CL quando o etilismo esteve associado ao tabagismo (BARRETT *et al.*, 1991).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias da densidade das CL em mulheres HIV-soropositivas que estavam fazendo uso de TARV quando comparadas àquelas que não estavam fazendo uso de TARV ($p= 0,37$). A maioria (70,4%) das mulheres estava em uso de TARV, diferentemente dos estudos mais antigos, onde essa percentagem era menor (SPINILLO *et al.*, 1993; ROSINI *et al.*, 1996), mas semelhante aos mais recentes (GONÇALVES *et al.*, 2004), o que pode ser explicado em parte pela maior oferta de tratamento e maior facilidade diagnóstica com o passar do tempo. Não está estabelecido ainda se a TARV exerce efeito protetor na recorrência de NIC, mesmo melhorando a resposta imune das mulheres (FERENCZY *et al.*, 2003;

RUSSOMANO, 2003), porém a TARV reduz a carga viral do HIV e melhora o nível de células CD4+ (MARKOWITZ *et al.*, 1995; HAMMER *et al.*, 1997). Em mulheres HIV-soropositivas a persistência do HPV e a carga viral alta estiveram associadas com agravamento citológico. Por outro lado, uma carga viral baixa com contagem dos linfócitos T CD4+ alta, esteve associada com melhora citológica (MASSAD *et al.*, 2001; MINKOFF *et al.*, 2001).

Alguns autores mostraram que a TARV altera o curso da infecção pelo HPV reduzindo a progressão e aumentando a regressão das lesões histológicas. Para eles, a redução da carga viral do HIV e a restauração da imunidade do hospedeiro poderiam retardar a progressão da NIC (MINKOFF *et al.*, 2001; AHDIEH-GRANT *et al.*, 2004). Gonçalves *et al.* (2004), verificaram associação da queda na carga viral do HIV e regressão das anormalidades citológicas, observando ainda um nítido aumento nas CL quando as mulheres estavam em uso de TARV. Para Gompels *et al.*(1998), o tratamento com o 3'azido-2', 3'-dideoxythymidyne (AZT) resulta em uma aumento no número de CD, redução na carga viral do HIV e aumento da capacidade das CD de estimular as células T. Por outro lado, Ahdieh-Grant *et al* (2004), afirmam que o uso de TARV não repercute na densidade das CL ou tem apenas um efeito modesto na história natural e no tratamento das NIC. Outros autores não encontraram correlação entre a queda na carga viral e a regressão das anormalidades citológicas com uso da TARV e sugerem uma provável ação direta das drogas anti-retrovirais no HPV (ORLANDO *et al.*, 1999), entretanto, Heard & Kazatchkine (1999) referem que a TARV não está associada a queda nos níveis de HPV-DNA no colo, mesmo nas mulheres cujas lesões clínicas desapareceram e Palefsky *et al.* (2006a) afirmam que a TARV não erradica a infecção pelo HPV.

Houve um número maior de CL em mulheres com NIC de alto grau comparando com as mulheres com NIC de baixo grau, no entanto esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,66$) e está de acordo com pesquisa recente de Levi *et al.*(2005) e de Gonçalves *et al.* (2004), que usaram o mesmo marcador imunohistoquímico (S-100).

Vários autores encontraram em mulheres HIV-soropositivas, com ou sem lesões cervicais, densidade de CL diminuída e quando havia NIC observaram uma redução progressiva no número das CL com o agravamento da lesão (HUGHES *et al.*, 1988; SPINILLO *et al.*, 1993; OLAITAN *et al.*, 1996; BARBERIS *et al.*, 1998; AHMED *et al.*, 2001; DONAGHY *et al.*, 2001; HAYATI, 2007). Para Donaghy (2001) isto provavelmente ocorre por conta de uma diminuição sistêmica dos precursores das células dendríticas, mas Rosini *et al.*(1996) observaram que a contagem reduzida de CL em mulheres HIV-soropositivas independeu das contagem periférica de linfócitos. Southern & Herrington (1998), em revisão da literatura sobre os eventos moleculares na infecção cervical pelo HPV, sugere que a diminuição das CL é um defeito de imunidade local às custas de alterações na vigilância imunológica *in situ* associada à agressão ao epitélio pelo vírus. Esta agressão provocaria defeitos imunes adquiridos que poderiam causar deficiência na erradicação do vírus e, desta forma, favorecer sua persistência. Assim sendo, a capacidade do vírus de persistir dependeria da capacidade deste de diminuir as CL e linfócitos T.

Por outro lado, vários autores encontraram um número maior de CL em mulheres HIV-soronegativas com NIC (MORRIS *et al.*, 1983a; CAORSI & FIGUEROA, 1986; MC ARDLE & MULLER, 1986; ABDU *et al.*, 1999; GIANNINI *et al.*, 2002) e este aumento na densidade das CL nas NIC também parece ser devido a uma

resposta imune específica direcionada contra as células com transformação neoplásica, pois se observou que áreas de NIC estavam muito infiltradas por células linfóides, provavelmente recrutadas pelas CL (MORRIS *et al.*, 1983a). Para Hubert *et al.*(1999) a capacidade de gerar DC *in vitro* a partir de precursores sanguíneos é essencialmente a mesma em mulheres normais com ou sem NIC. Na nossa opinião, em mulheres HIV-soropositivas com NIC o comportamento das CL é semelhante. A diferença é que nas mulheres HIV-soropositivas com ou sem HPV existe diminuição da resposta imune sistêmica e no colo uterino, mas quando existe NIC, há aumento da resposta local como forma de impedir o progresso da lesão, pois as CL agem como sentinelas contra células malignas (HOLIKOVA *et al.*, 2001).

Possíveis explicações para a discrepância das várias pesquisas arroladas na literatura no que concerne à quantificação das CL, estariam relacionadas às técnicas de coloração e quantificação destas células no epitélio cervical, assim como à perda de controle na variação histológica numa mesma biópsia e estágio da infecção pelo HIV (LEVI *et al.*, 2005). Além disso Jimenez-Flores *et al.*(2006), sugerem que nos diversos estudos da literatura científica pode ter havido diferença na precisão da localização histológica da biópsia cervical e diversidade de estágios da infecção pelo HPV nas amostras. Sugerem também que deveria haver padronização dos cortes histológicos “em lençol” ao invés da lâmina de tecido obtida por micrótomo, pois eles dão uma visão mais panorâmica das CL com seus dendritos e que se use mais de um marcador para identificar as CL.

Estas razões (em especial a última) estariam bem situadas naqueles casos em que a contagem das CL resultasse em baixa detecção destas células, diferentemente do encontrado nesta pesquisa, quando elas foram identificadas

satisfatoriamente e em número até maior que algumas pesquisas utilizando o mesmo marcado imunohistoquímico.

Os tipos do HPV foram identificados através da PCR (método de alta sensibilidade e especificidade para HPV), que é o padrão-ouro para detecção de HPV-DNA (MUÑOZ *et al.*, 2003; LEVI *et al.*, 2004; CAMPOS *et al.*, 2005; VILLA & DENNY, 2006) em 76,4% das mulheres, o que está de acordo com os dados de Souza *et al.* (2001.) e Melo *et al.* (2003), que variaram de 52,8% a 73,2% nas HIV-soropositivas e 23,7% a 26% nas HIV-soronegativas.

O tipo de HPV mais encontrado foi o 16 (18,5%), seguido do 31 (12,4%) e dos tipos 58 e 61 (9,3%), números estes similares aos de Al-Saleh *et al.*(1995), que também não encontraram diferença estatisticamente significativa quanto à oncogenicidade do HPV nos diferentes graus de NIC, apesar de os HPV-16 e HPV-18 terem sido encontrados mais freqüentemente nas lesões mais graves.

A maioria das infecções pelo HPV foi atribuída a um tipo isolado (52,95%), enquanto que em 32,4% o padrão de bandeamento sugeriu a possibilidade de infecção mista. Em 14,7% foi feita apenas identificação do genótipo por seqüenciamento. Campos *et al.* (2005) afirmam que existe até 65% de possibilidade de se detectar mais de um tipo de HPV e que a infecção múltipla é mais freqüente em mulheres HIV-soropositivas, mas de acordo com Levi *et al.*(2004) não foi observado risco adicional de NIC em mulheres com infecções simples quando elas foram comparadas com portadoras de mais de um tipo de HPV. Também não foi observada correlação da multiplicidade de tipos de HPV com a gravidade da imunossupressão.

Fazendo uma correlação do grau de NIC com o tipo de HPV, nas NIC de alto grau foram identificados quatro HPV de alto risco e três de baixo risco; nas NIC de

baixo grau foram treze HPV de alto risco e um de baixo risco. Nos resultados normais/metaplásicos foram oito HPV de alto risco, dois de baixo-risco e um de risco intermediário. Preocupa o fato de que em seis mulheres HIV-soropositivas com NIC de alto grau, três tiveram NIC atribuídas a tipos de HPV não-vacinais (HPV-31, 33 e MM4). Embora este número de pacientes seja pequeno, o percentual foi quase o dobro do observado em trabalho recente da literatura nacional (PEREIRA *et al.*, 2007).

A densidade das CL foi menor nos colos uterinos das mulheres HIV-soropositivas na presença de infecção pelo HPV sem NIC em relação ao encontrado na literatura relativo às mulheres HIV-soronegativas (FIGUEROA & CAORSI, 1980; PUDNEY *et al.*, 2005). Quando a NIC esteve presente, houve aumento progressivo da densidade de CL em relação à gravidade da lesão, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Este último achado está de acordo com vários autores (CAORSI & FIGUEROA, 1986; HAWTHORN *et al.*, 1988; MORELLI *et al.*, 1993; ROSINI *et al.*, 1996), porém discordante de outros, que observaram uma redução progressiva do número das CL com o agravamento da NIC (HUGHES *et al.*, 1988; SPINILLO *et al.*, 1993; OLAITAN *et al.*, 1996; ROSINI *et al.*, 1996; BARBERIS *et al.*, 1998; AHMED *et al.*, 2001; WALKER *et al.*, 2005; HAYATI, 2007).

De acordo com Caorsi *et al* (1986) a diminuição da densidade das CL na presença de HPV provavelmente é um requisito para o desenvolvimento dos seus efeitos oncogênicos. Uma vez que a NIC se instala, algum tipo de sinal é emitido e há um estímulo à produção de CL, através de migração, proliferação e retenção prolongada delas. Graças à sua capacidade de capturar e apresentar antígenos, as CL induzem a resposta imune celular e também convertem sinais imunogênicos e de tolerabilidade. Se os tecidos estiverem desprovidos destas células ocorrerá vulnerabilidade destes em situações especiais

de agressão. Curiosamente Viac (1993) encontrou diminuição das CL em verrugas plantares e palmares, porém não encontrou redução na mucosa genital nem nos papilomas laríngeos. Em revisão realizada por Scott *et al.* (2001) sobre a resposta imune celular à infecção pelo HPV, ele relata que possivelmente a diminuição das CL representa uma evasão normal destas células carregadas de antígenos para os linfonodos a fim de apresentá-los às células T *naïve*. Revela ainda que, numa outra revisão feita por Wang *et al.*, as citocinas elaboradas pelos queratinócitos são mediadores cruciais para o processo de captura de antígenos pelas CL, incluindo a IL-10, a qual é inibidora da sua migração. Pesquisa de Mota *et al.*(1999) revela que existe uma evidente expressão da IL-10 nas NIC, o que não ocorre no epitélio normal. Este achado sugere que a maior expressão de IL-10 está relacionada indiretamente a uma maior presença de CL nas NIC.

Uma maior densidade de CL nas NIC parece ser um achado mais plausível, pois quanto mais CL, mais ramificações existem, e com isso há um aumento da sua superfície e da chance de exercer seus atributos de sentinela. Além do mais, sabe-se que o prognóstico de vários tipos de tumores melhora quando existe uma maior densidade de CL. Isto já foi observado em pacientes portadores de tumores de pele, colon e adenocarcinoma de pulmão e de intestino (BANCHEREAU & STEINMAN, 1998; MIYAGI *et al.*, 2001). Logo, o raciocínio para as neoplasias do colo uterino é o mesmo. Já que apenas uma minoria das NIC evolui para CCIU, é provável que as lesões mais graves devam possuir mais CL a fim de impedir a sua evolução, pois de acordo com Fukuda *et al.*(1993) quando foram comparados grupos de mulheres HIV-soronegativas portadoras de NIC persistente com mulheres HIV-soronegativas portadoras de NIC regressiva, as que regrediram tinham mais CL.

Acreditamos que estes são alguns dos motivos pelos quais não existe um aumento considerável de CCUI nas mulheres HIV-soropositivas, apesar do aumento da prevalência de NIC nestas mulheres (WRIGHT JR *et al.*, 1994a; GARZETTI *et al.*, 1995; BERRY & PALEFSKY, 1998; ELLERBROCK *et al.*, 2000; ROBINSON *et al.*, 2003).

Também não houve diferença estatisticamente significativa quando foram comparadas as médias das CL nas mulheres HIV-soropositivas com carga viral detectável, com a média das CL nas mulheres com carga viral indetectável (<400 cópias), nem quando agrupamos as mulheres com menos de 1000 cópias em relação às que tinham mais que isso, resultado concordante com a literatura (COELHO *et al.*, 2004; LEVI *et al.*, 2005).

Com relação à contagem dos linfócitos T CD4+, houve uma maior densidade de CL quando comparamos a média das CL nas mulheres com contagem menor que 200 células/mm² com a média das CL de mulheres que tinham contagem maior que este valor, sendo que a diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,08$), mas o valor foi próximo ao ponto de corte estabelecido ($p=0,05$). Provavelmente esta diferença seria estatisticamente significativa se o tamanho amostral fosse maior que o conseguido.

Levi *et al.* (2005) também encontraram um aumento de CL quando o número de linfócitos T CD4+ foi menor de 200 células/mm² e justificaram que, embora este resultado pareça contrário ao da literatura, as mulheres que participaram do seu estudo tinham a carga viral muito baixa e estavam em uso de TARV no momento da entrevista.

Para alguns autores, em mulheres HIV-soropositivas com contagem de linfócitos T CD4+ menor que 200 células/mm² (SOPRACORDEVOLE *et al.*, 1996; PALEFSKY *et al.*, 1999; DELMAS *et al.*, 2000), menor que 100 (LEVI *et al.*, 2002), ou menor que 350 (SILVA *et al.*, 2003), o risco de NIC é maior. Para Harris *et al.* (2005) as

mulheres HIV-soropositivas forem negativas para HPV o risco de desenvolver NIC independe da contagem dos linfócitos T CD4+. Gonçalves *et. al* (2004) também encontraram uma diminuição das CL epiteliais em mulheres HIV-soronegativas quando a contagem dos linfócitos T CD4+ era menor de 200 células/mm², porém, só havia uma paciente HIV-soropositiva portadora de NIC de alto grau com menos de 200 linfócitos T CD4+/mm² nos seu estudo, enquanto no nosso, foram três.

Parece não haver interferência da contagem dos linfócitos T CD4+ na progressão das NIC, pois a maioria dos autores pensa que, mesmo que a baixa imunidade possa influir no aparecimento das NIC, uma vez instalada a lesão, não há interferência dela na progressão para graus mais graves (MORRIS *et al.*, 1983b; VERNON *et al.*, 1999; CARDILLO *et al.*, 2001; COELHO *et al.*, 2004; ARAÚJO *et al.*, 2005; HEARD *et al.*, 2005; FRIDMANN *et al.*, 2006). Levi *et al.* (2005) acreditam que a carga viral do HIV é um preditor mais forte da densidade das CL do que a contagem dos linfócitos T CD4+.

Estes achados reforçam nossa opinião a respeito do aumento das CL independentemente do *status* imunológico sistêmico (mesmo com CD4+ abaixo de 200 células/mm²), vez que as CL exercem papel fundamental como células apresentadoras de antígenos estranhos (oncogênicos ou virais) aos linfócitos T CD4+.

Em suma, parece que a infecção pelo HIV leva a um impedimento precoce da imunorreatividade na mucosa cervical favorecendo a infecção pelo HPV, mas há um aumento quantitativo das CL à medida que a NIC se agrava.

Além de não estar disponível um marcador universal para coloração das CL que promova uma distinção completa destas células, outros estudos que avaliem suas propriedades funcionais e características fenotípicas também deverão ser realizados, pois estas células, independentemente do seu número ou morfologia, são funcionalmente

lábeis e a regulação da sua função depende de inúmeros fatores. Novos trabalhos multicêntricos e com população de estudo mais encorpada deverão ser realizados em pacientes imunodeprimidos.

13 CONCLUSÕES

1. A densidade das CL em mulheres HIV-soropositivas foi de 1,90 células/mm².
2. Há um aumento na densidade das CL nas NIC de alto grau quando comparadas com NIC de baixo grau, porém este aumento não foi estatisticamente significativo.
3. Houve um aumento das CL quando a contagem dos linfócitos T CD4+ foi menor que 200 por mm² em comparação às médias encontradas em mulheres com níveis acima deste limite, mas sem diferença estatisticamente significativa.
4. Não houve diferença estatisticamente significativa quando foram comparadas as médias das CL nas mulheres HIV-soropositivas com carga viral detectável com a média das CL nas mulheres com carga viral indetectável.
5. Não houve associação entre a densidade das CL e tabagismo nos diferentes graus de NIC em mulheres HIV-soropositivas.
6. Não houve associação entre a densidade das CL e etilismo nos diferentes graus de NIC em mulheres HIV-soropositivas.
7. Não houve diferença estatisticamente significativa na densidade das CL com relação à faixa etária.
8. Não houve diferença estatisticamente significativa na densidade das CL com relação à oncogenicidade do HPV.
9. Não houve diferença estatisticamente significativa na densidade das CL em mulheres que estavam fazendo uso de TARV em relação as que não estavam fazendo uso de TARV.

14 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ABDOU, L A; EL-GAZAYERLY, I M; EL-SHAZLEY, L Y; ZOHEIR, M A; KHOLEIF, A E; EL-SEDFY, A S. Immunohistochemical and ultrastructural study of Langerhans's cells in squamous cell carcinoma of the cervix. J Obstet Gynaecol Res, 25 (1) Feb 15-21, 1999.

AHDIEH-GRANT, L; LI, R; LEVINE, A M; MASSAD, L S; STRICKLER, H D; MINKOFF, H; MOXLEY, M; PALEFSKY, J; SACKS, H; BURK, R D; GANGE, S J. Highly active antiretroviral therapy and cervical squamous intraepithelial lesions in human immunodeficiency virus-positive women. J Natl Cancer Inst, 96 (14) Jul 21 1070-6, 2004.

AHMED, S M; AL-DOUJAILY, H; JOHNSON, M A; KITCHEN, V; REID, W M; POULTER, L W. Immunity in the female lower genital tract and the impact of HIV infection. Scand J Immunol, 54 (1-2) Jul-Aug 225-38, 2001.

AL-SALEH, W; DELVENNE, P; ARRESE, J E; NIKKELS, A F; PIERARD, G E; BONIVER, J. Inverse modulation of intraepithelial Langerhans' cells and stromal macrophage/dendrocyte populations in human papillomavirus-associated squamous intraepithelial lesions of the cervix. Virchows Arch, 427 (1) 41-8, 1995.

AL-SALEH, W; GIANNINI, S L; JACOBS, N; MOUTSCHEN, M; DOYEN, J; BONIVER, J; DELVENNE, P. Correlation of T-helper secretory differentiation and types of antigen-presenting cells in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. J Pathol, 184 (3) Mar 283-90, 1998.

ANDERSSON-ELLSTROM, A; DILLNER, J; HAGMAR, B; SCHILLER, J; SAPP, M; FORSSMAN, L; MILSOM, I. Comparison of development of serum antibodies to HPV16 and HPV33 and acquisition of cervical HPV DNA among sexually experienced and virginal young girls. A longitudinal cohort study. Sex Transm Dis, 23 (3) May-Jun 234-8, 1996.

ARANY, I & TYRING, S K. Status of local cellular immunity in interferon-responsive and -nonresponsive human papillomavirus-associated lesions. Sex Transm Dis, 23 (6) Nov-Dec 475-80, 1996.

ARAÚJO, A C L; MELO, V; CASTRO, L; GUIMARÃES, M; ALEIXO, A; SILVA, M. Associação entre a carga viral e os linfócitos T CD4+ com as lesões intra-epiteliais do colo uterino em mulheres infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana. Rev Bras Ginecol Obstet, 27 (3) 106-11, 2005.

ARENDS, M J; BUCKLEY, C H; WELLS, M. Aetiology, pathogenesis, and pathology of cervical neoplasia. J Clin Pathol, 51 (2) Feb 96-103, 1998.

ARNHEIM, L. Immunological response in genital HPV infections and etiology of cervical cancer. (Doctoral dissertation). Microbiology and Tumorbiology Center, Karolinska Institutet, Stockholm, 2005. 65 p.

AUGE, A P F; PIATO, S; FRADE, A B. Frequência de neoplasia intra-epitelial em portadoras do vírus da imunodeficiência humana. Rev Bras Ginecol Obstet, 22 (9) 573-7, 2000.

BAKER, D A. Management of the female HIV-infected patient. AIDS Res Hum Retroviruses, 10 (8) Aug 935-8, 1994.

BANCHEREAU, J; PACZESNY, S; BLANCO, P; BENNETT, L; PASCUAL, V; FAY, J; PALUCKA, A. Dendritic Cells. Controllers of the Immune System and a New Promise for Immunotherapy
doi:10.1111/j.1749-6632.2003.tb06047.x. Annals of the New York Academy of Sciences, 987 (1) 180-187, 2003.

BANCHEREAU, J & STEINMAN, R M. Dendritic cells and the control of immunity. Nature, 392 (6673) 1998/03/19/print 245-252, 1998.

BARBERIS, M C; VAGO, L; CECCHINI, G; BRAMERIO, M; BANFI, G; D'AMICO, M; CANNONE, M. Local impairment of immunoreactivity in HIV-infected women with HPV-related squamous intraepithelial lesions of the cervix. Tumori, 84 (4) Jul-Aug 489-92, 1998.

BARRETT, A W; WILLIAMS, D M; SCOTT, J. Effect of tobacco and alcohol consumption on the Langerhans cell population of human lingual epithelium determined using a monoclonal antibody against HLADR. J Oral Pathol Med, 20 (2) Feb 49-52, 1991.

BARTON, S E; HOLLINGWORTH, A; MADDOX, P H; EDWARDS, R; CUZICK, J; MCCANCE, D J; JENKINS, D; SINGER, A. Possible cofactors in the etiology of cervical intraepithelial neoplasia. An immunopathologic study. J Reprod Med, 34 (9) Sep 613-6, 1989.

BARTON, S E; MADDOX, P H; JENKINS, D; EDWARDS, R; CUZICK, J; SINGER, A. Effect of cigarette smoking on cervical epithelial immunity: a mechanism for neoplastic change? Lancet, 2 (8612) Sep 17 652-4, 1988.

BELSITO, D V; FLOTTE, T J; LIM, H W; BAER, R L; THORBECKE, G J; GIGLI, I. Effect of glucocorticosteroids on epidermal Langerhans cells. J Exp Med, 155 (1) Jan 1 291-302, 1982.

BEREK, J S. Simplification of the new Bethesda 2001 classification system. Am J Obstet Gynecol, 188 (3 Suppl) Mar S2-5; discussion S6-7, 2003.

BERRY, J M & PALEFSKY, J M. Anogenital neoplasia and HIV: HIV in Site. 1998 1998.

BORGES, S C V B; MELO, V H; MORTOZA JR., G M; ABRANCHES, A; LIRA NETO, J B; TRIGUEIRO, M C. Taxa de detecção do Papilomavírus Humano pela Captura Híbrida II, em mulheres com Neoplasia Intra-epitelial Cervical. RBGO, 26 (2) 105-110, 2004.

BOSCH, F X & DE SANJOSE, S. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer--burden and assessment of causality. J Natl Cancer Inst Monogr (31) 3-13, 2003.

BOSCH, F X; MANOS, M M; MUNOZ, N; SHERMAN, M; JANSEN, A M; PETO, J; SCHIFFMAN, M H; MORENO, V; KURMAN, R; SHAH, K V. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. J Natl Cancer Inst, 87 (11) Jun 7 796-802, 1995.

BRASIL. Instituto Nacional do Câncer. Câncer do colo uterino. Rev. Bras. Cancerol., 46 351-4, 2000.

BURGER, M P; HOLLEMA, H; PIETERS, W J; SCHRODER, F P; QUINT, W G. Epidemiological evidence of cervical intraepithelial neoplasia without the presence of human papillomavirus. Br J Cancer, 73 (6) Mar 831-6, 1996.

C.D.C. Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. JAMA, 269 (6) Feb 10 729-30, 1993.

CÂMARA, P A D. Aspectos histopatológicos e imunopatológicos do colo uterino antes e após eletrocauterização. Tese. Instituto de Ginecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro., UFRJ, Rio de Janeiro, 1991.

CAMPANER, A B; PIATO, S; GALVAO, M A; DOS SANTOS, R E; NADAIS, R F. Langerhans cells in cervical intraepithelial neoplasia related to smoking habits. J Low Genit Tract Dis, 10 (4) Oct 223-8, 2006.

CAMPOS, R R; MELO, V H; CASTILHO, D M; NOGUEIRA, C P F. Prevalência do papilomavírus humanos e seus genótipos em mulheres portadoras e não-portadoras do vírus da imunodeficiência humana. Rev Bras Ginecol Obstet, 27 (5) 248-256, 2005.

CAORSI, I & FIGUEROA, C D. Langerhans' cell density in the normal exocervical epithelium and in the cervical intraepithelial neoplasia. Br J Obstet Gynaecol, 93 (9) Sep 993-8, 1986.

CAPPIELLO, G; GARBUGLIA, A R; SALVI, R; REZZA, G; GIULIANI, M; PEZZOTTI, P; SULIGOI, B; BRANCA, M; MIGLIORE, G; FORMIGONI POMPONI, D; D'UBALDO, C; IPPOLITO, G; GIACOMINI, G; BENEDETTO, A. HIV infection increases the risk of squamous intra-epithelial lesions in women with HPV infection: an analysis of HPV genotypes. DIANAIDS Collaborative Study Group. Int J Cancer, 72 (6) Sep 17 982-6, 1997.

CARDILLO, M; HAGAN, R; ABADI, J; ABADI, M A. CD4 T-cell count, viral load, and squamous intraepithelial lesions in women infected with the human immunodeficiency virus. Cancer, 93 (2) Apr 25 111-4, 2001.

CARVALHO, J J M & OYAKAWA, N. Consenso Brasileiro de HPV. São Paulo, v.único. 2000. 142 p.

CASTELLSAGUE, X & MUÑOZ, N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis--role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. J Natl Cancer Inst Monogr (31) 20-8, 2003.

CHARNOW, J A. Early colposcopy may be justified for some smokers with abnormal tests. Medical Tribune, 39 (18) 1998, 1998.

CHIN, K M; SIDHU, J S; JANSSEN, R S; WEBER, J T. Invasive cervical cancer in human immunodeficiency virus-infected and uninfected hospital patients. Obstet Gynecol, 92 (1) Jul 83-7, 1998.

CHOPRA, K F & TYRING, S K. The impact of the human immunodeficiency virus on the human papillomavirus epidemic. Arch Dermatol, 133 (5) May 629-33, 1997.

CLARKE, B & CHETTY, R. Postmodern cancer: the role of human immunodeficiency virus in uterine cervical cancer. Mol Pathol, 55 (1) Feb 19-24, 2002.

CLIFFORD, G M; SMITH, J S; PLUMMER, M; MUNOZ, N;FRANCESCHI, S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. Br J Cancer, 88 (1) Jan 13 63-73, 2003.

COCCHIA, D; MICHETTI, F;DONATO, R. Immunochemical and immuno-cytochemical localization of S-100 antigen in normal human skin. Nature, 294 (5836) Nov 5 85-7, 1981.

COELHO, R A; FACUNDO, M K F; NOGUEIRA, A L; SAKANO, C R B; RIBALTA, J C;BARACAT, E C. Relação entre diagnóstico citopatológico de Neoplasia Intra-epitelial Cervical e índice de células CD4+ e de carga viral em pacientes HIV-soropositivas. Rev Bras Ginecol Obstet, 26 (2) 97-102, 2004.

COLEMAN, N; BIRLEY, H D; RENTON, A M; HANNA, N F; RYAIT, B K; BYRNE, M; TAYLOR-ROBINSON, D;STANLEY, M A. Immunological events in regressing genital warts. Am J Clin Pathol, 102 (6) Dec 768-74, 1994.

CONNOR, J P; FERRER, K; KANE, J P;GOLDBERG, J M. Evaluation of Langerhans' cells in the cervical epithelium of women with cervical intraepithelial neoplasia. Gynecol Oncol, 75 (1) Oct 130-5, 1999.

CONTI, M; AGAROSI, A; PARAZZINI, F; MUGGIASCA, M L; BOSCHINI, A; NEGRI, E;CASOLATI, E. HPV, HIV infection, and risk of cervical intraepithelial neoplasia in former intravenous drug abusers. Gynecol Oncol, 49 (3) Jun 344-8, 1993.

COOPER, K D; ANDROPHY, E J; LOWY, D; KATZ, S I. Antigen presentation and T-cell activation in epidermodysplasia verruciformis. J Invest Dermatol, 94 (6) Jun 769-76, 1990.

CORDEIRO, M R A & COSTA, H L F F. Ginecologia e Obstetrícia. In: H L F F Costa e Moraes Filho, O B (Ed.). Ginecologia e Obstetrícia. Recife: Edupe, v.Único, 2006. Ginecologia e Obstetrícia, p.292

CULLEN, A P; REID, R; CAMPION, M; LORINCZ, A T. Analysis of the physical state of different human papillomavirus DNAs in intraepithelial and invasive cervical neoplasm. J Virol, 65 (2) Feb 606-12, 1991.

CU-UVIN, S; HOGAN, J W; WARREN, D; KLEIN, R S; PEIPERT, J; SCHUMAN, P; HOLMBERG, S; ANDERSON, J; SCHOENBAUM, E; VLAHOV, D; MAYER, K H. Prevalence of lower genital tract infections among human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and high-risk HIV-seronegative women. HIV Epidemiology Research Study Group. Clin Infect Dis, 29 (5) Nov 1145-50, 1999.

DAILARD, C. Sex education: politicians, parents, teachers and teens. Issues Brief (Alan Guttmacher Inst) (2) Mar 1-4, 2001.

DE CASTRO, L N & VON ZUBEN, F J. Engenharia Imunológica: Desenvolvimento e Aplicação de Ferramentas Computacionais Inspiradas em Sistemas Imunológicos Artificiais. UNICAMP, Campinas SP, 2001.

DE JONG, M C; BLANKEN, R; NANNINGA, J; VAN VOORST VADER, P C; POPPEMA, S. Defined in situ enumeration of T6 and HLA-DR expressing epidermal Langerhans cells: morphologic and methodologic aspects. J Invest Dermatol, 87 (6) Dec 698-702, 1986.

DELMAS, M C; LARSEN, C; VAN BENTHEM, B; HAMERS, F F; BERGERON, C; POVEDA, J D; ANZEN, B; VAN DEN HOEK, A; MEIER, F; PENA, J M; SAVONIUS, H; SPERANDEO, D; SULIGOI, B; VERNAZZA, P; BRUNET, J B. Cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women: prevalence, incidence and regression. European Study Group on Natural History of HIV Infection in Women. Aids, 14 (12) Aug 18 1775-84, 2000.

DENOON, D J. Heterosexual AIDS Epidemic could expand in U. S. and Europe. Aids Weekly Plus, 1996.

DERCHAIN, S F; VASSALLO, J; PINTO, G A; IRAZUSTA, S P; ANDRADE, L A. Langerhans' cells in cervical condyloma and intraepithelial neoplasia in smoking and non-smoking adolescents. Acta Derm Venereol, 76 (6) Nov 493-4, 1996.

DILLNER, J. Primary screening for human papillomavirus infection. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 15 (5) Oct 743-57, 2001.

DILLNER, J; KALLINGS, I; BRIHMER, C; SIKSTROM, B; KOSKELA, P; LEHTINEN, M; SCHILLER, J T; SAPP, M; MARDH, P A. Seropositivities to human papillomavirus types 16, 18, or 33 capsids and to Chlamydia trachomatis are markers of sexual behavior. J Infect Dis, 173 (6) Jun 1394-8, 1996.

DONAGHY, H; POZNIAK, A; GAZZARD, B; QAZI, N; GILMOUR, J; GOTCH, F; PATTERSON, S. Loss of blood CD11c(+) myeloid and CD11c(-) plasmacytoid dendritic cells in patients with HIV-1 infection correlates with HIV-1 RNA virus load. Blood, 98 (8) Oct 15 2574-6, 2001.

DUNNE, E F; UNGER, E R; STERNBERG, M; MCQUILLAN, G; SWAN, D C; PATEL, S S; MARKOWITZ, L E. Prevalence of HPV Infection Among Females in the United States. Jama, 297 (8) Feb 28 813-9, 2007.

ELLERBROCK, T V; CHIASSON, M A; BUSH, T J; SUN, X W; SAWO, D; BRUDNEY, K; WRIGHT, T C, JR. Incidence of cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women. Jama, 283 (8) Feb 23 1031-7, 2000.

FERENCZY, A; COUTLEE, F; FRANCO, E; HANKINS, C. Human papillomavirus and HIV coinfection and the risk of neoplasias of the lower genital tract: a review of recent developments. Cmaj, 169 (5) Sep 2 431-4, 2003.

FERLAY, J; BRAY, F; PISANI, P. GLOBOCAN 2002: Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. IARC CancerBase (5 version 2.0. Lyon, IARC Press 2004), 2005.

FIGUEROA, C D & CAORSI, I. Ultrastructural and morphometric study of the Langerhans cell in the normal human exocervix. J Anat, 131 (Pt 4) Dec 669-82, 1980.

FRANCO, R; AMARAL, R G; MONTEMOR, E B L; MONTIS, D M; MORAIS, S S; ZEFERINO, L C. Fatores associados a resultados falso-negativos de exames citopatológicos do colo uterino. Rev Bras Ginecol Obstet, 28 (8) 479-85, 2006.

FRIDMANN, S; BOUFASSA, F; CARTIER, I; PERETTI, D; LAZURE, T; MOLE, M; DELFRAISSY, J F; GOUJARD, C. [Risk factors for incident cervical intraepithelial neoplasia (CIN) among HIV-infected women: a prospective study]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris), 35 (5 Pt 1) Sep 490-6, 2006.

FUKUDA, K; HACHISUGA, T; NAKAMURA, S; MATSUO, N; IWASAKA, T; SUGIMORI, H. Local immune response in persistent cervical dysplasia. Obstet Gynecol, 82 (6) Dec 941-5, 1993.

GALLOWAY, D A. Papillomavirus capsids: a new approach to identify serological markers of HPV infection. J Natl Cancer Inst, 86 (7) Apr 6 474-5, 1994.

GARLAND, S M. Human papillomavirus update with a particular focus on cervical disease. Pathology, 34 (3) Jun 213-24, 2002.

GARZETTI, G G; CIAVATTINI, A; BUTINI, L; VECCHI, A; MONTRONI, M. Cervical dysplasia in HIV-seropositive women: role of human papillomavirus infection and immune status. Gynecol Obstet Invest, 40 (1) 52-6, 1995.

GHEIT, T; SIMOES, R T; TOMMASINO, M; DONADI, E A; GONCALVES, M A. HPV16 variants in squamous intraepithelial lesions in human immunodeficiency virus-negative and -positive Brazilian women. Viral Immunol, 19 (2) 340-5, 2006.

GIANNINI, S L; HUBERT, P; DOYEN, J; BONIVER, J; DELVENNE, P. Influence of the mucosal epithelium microenvironment on Langerhans cells: implications for the development of squamous intraepithelial lesions of the cervix. Int J Cancer, 97 (5) Feb 10 654-9, 2002.

GILLES, C; MANIGART, Y; KONOPNICKI, D; BARLOW, P; ROZENBERG, S. Management and outcome of cervical intraepithelial neoplasia lesions: a study of matched cases according to HIV status. Gynecol Oncol, 96 (1) Jan 112-8, 2005.

GISSMANN, L & ZUR HAUSEN, H. Partial characterization of viral DNA from human genital warts (Condylomata acuminata). Int J Cancer, 25 (5) May 15 605-9, 1980.

GOMPELS, M; PATTERSON, S; ROBERTS, M S; MACATONIA, S E; PINCHING, A J; KNIGHT, S C. Increase in dendritic cell numbers, their function and the proportion uninfected during AZT therapy. Clin Exp Immunol, 112 (2) May 347-53, 1998.

GONÇALVES, M A & DONADI, E A. Immune cellular response to HPV: current concepts. Braz J Infect Dis, 8 (1) Feb 1-9, 2004.

GONÇALVES, M A; SOARES, E G; FERNANDES, A P; FONSECA, B A; BETTINI, J S; SIMOES, R T; DONADI, E A. Langerhans' cell count and HLA class II profile in cervical intraepithelial neoplasia in the presence or absence of HIV infection. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 114 (2) Jun 15 221-7, 2004.

GREENBLATT, M S; BENNETT, W P; HOLLSTEIN, M; HARRIS, C C. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. Cancer Res, 54 (18) Sep 15 4855-78, 1994.

GUPTA, P; COLLINS, K B; RATNER, D; WATKINS, S; NAUS, G J; LANDERS, D V; PATTERSON, B K. Memory CD4(+) T cells are the earliest detectable human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-infected cells in the female genital mucosal tissue during HIV-1 transmission in an organ culture system. J Virol, 76 (19) Oct 9868-76, 2002.

HAGENSEE, M E; KOUTSKY, L A; LEE, S K; GRUBERT, T; KUYPERS, J; KIVIAT, N B; GALLOWAY, D A. Detection of cervical antibodies to human papillomavirus type 16 (HPV-16) capsid antigens in relation to detection of HPV-16 DNA and cervical lesions. J Infect Dis, 181 (4) Apr 1234-9, 2000.

HALPERT, R; FRUCHTER, R G; SEDLIS, A; BUTT, K; BOYCE, J G; SILLMAN, F H. Human papillomavirus and lower genital neoplasia in renal transplant patients. Obstet Gynecol, 68 (2) Aug 251-8, 1986.

HAMMER, S M; SQUIRES, K E; HUGHES, M D; GRIMES, J M; DEMETER, L M; CURRIER, J S; ERON, J J, JR.; FEINBERG, J E; BALFOUR, H H, JR.; DEYTON, L R; CHODAKEWITZ, J A; FISCHL, M A. A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS Clinical Trials Group 320 Study Team. N Engl J Med, 337 (11) Sep 11 725-33, 1997.

HANKINS, C; COUTLEE, F; LAPOINTE, N; SIMARD, P; TRAN, T; SAMSON, J; HUM, L. Prevalence of risk factors associated with human papillomavirus infection in women living with HIV. Canadian Women's HIV Study Group. Cmaj, 160 (2) Jan 26 185-91, 1999.

HARDIN, J A. Dendritic cells: potential triggers of autoimmunity and targets for therapy. Ann Rheum Dis, 64 Suppl 4 Nov iv86-90, 2005.

HARRIS, T G; BURK, R D; PALEFSKY, J M; MASSAD, L S; BANG, J Y; ANASTOS, K; MINKOFF, H; HALL, C B; BACON, M C; LEVINE, A M; WATTS, D H; SILVERBERG, M J; XUE, X; MELNICK, S L; STRICKLER, H D. Incidence of Cervical Squamous Intraepithelial Lesions Associated With HIV Serostatus, CD4 Cell Counts, and Human Papillomavirus Test Results
10.1001/jama.293.12.1471. JAMA, 293 (12) March 23, 2005 1471-1476, 2005.

HART, D. Dendritic cell biology evolves into clinical application. Lancet, 365 January 8 102-4, 2005.

HASSEN, E; CHAIEB, A; LETAIEF, M; KHAIRI, H; ZAKHAMA, A; REMADI, S; CHOUCANE, L. Cervical human papillomavirus infection in Tunisian women. Infection, 31 (3) Jun 143-8, 2003.

HAWTHORN, R J; MURDOCH, J B; MACLEAN, A B; MACKIE, R M. Langerhans' cells and subtypes of human papillomavirus in cervical intraepithelial neoplasia. Bmj, 297 (6649) Sep 10 643-6, 1988.

HAYATI, A R M B B S Z, MOHAMMAD. An Immunohistochemical Study of CD1a and CD83-Positive Infiltrating Dendritic Cell Density in Cervical Neoplasia. International Journal of Gynecological Pathology, 26 (1) January 2007 83-8, 2007.

HEARD, I & KAZATCHKINE, M D. Regression of Cervical Lesions in HIV-Infected Women Receiving HAART. The Aids Reader, 9 (9) 630-5, 1999.

HEARD, I; POTARD, V; FOULOT, H; CHAPRON, C; COSTAGLIOLA, D; KAZATCHKINE, M D. High rate of recurrence of cervical intraepithelial neoplasia after surgery in HIV-positive women. J Acquir Immune Defic Syndr, 39 (4) Aug 1 412-8, 2005.

HENNEKENS, C H. Epidemiology in Medicine. Boston/Toronto: Little Brown & Co. 1987

HILDESHEIM, A; HERRERO, R; CASTLE, P E; WACHOLDER, S; BRATTI, M C; SHERMAN, M E; LORINCZ, A T; BURK, R D; MORALES, J; RODRIGUEZ, A C; HELGESEN, K; ALFARO, M; HUTCHINSON, M; BALMACEDA, I; GREENBERG, M; SCHIFFMAN, M. HPV co-factors related to the development of cervical cancer: results from a population-based study in Costa Rica. Br J Cancer, 84 (9) May 4 1219-26, 2001a.

HILDESHEIM, A; SCHIFFMAN, M; BROMLEY, C; WACHOLDER, S; HERRERO, R; RODRIGUEZ, A; BRATTI, M C; SHERMAN, M E; SCARPIDIS, U; LIN, Q Q; TERAJ, M; BROMLEY, R L; BUETOW, K; APPLE, R J; BURK, R D. Human papillomavirus type 16 variants and risk of cervical cancer. J Natl Cancer Inst, 93 (4) Feb 21 315-8, 2001.

HILDESHEIM, A; SCHIFFMAN, M H; GRAVITT, P E; GLASS, A G; GREER, C E; ZHANG, T; SCOTT, D R; RUSH, B B; LAWLER, P; SHERMAN, M E; ET AL. Persistence of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women. J Infect Dis, 169 (2) Feb 235-40, 1994.

HO, G Y; BIERMAN, R; BEARDSLEY, L; CHANG, C J; BURK, R D. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. N Engl J Med, 338 (7) Feb 12 423-8, 1998.

HO, G Y; BURK, R D; FLEMING, I; KLEIN, R S. Risk of genital human papillomavirus infection in women with human immunodeficiency virus-induced immunosuppression. Int J Cancer, 56 (6) Mar 15 788-92, 1994.

HOLIKOVA, Z; HERCOGOVA, J; PIZAK, J; SMETANA, K, JR. Dendritic cells and their role in skin-induced immune responses. J Eur Acad Dermatol Venereol, 15 (2) Mar 116-20, 2001.

HOWLEY, P M; MUNGER, K; ROMANCZUK, H; SCHEFFNER, M; HUIBREGTSE, J M. Cellular targets of the oncoproteins encoded by the cancer associated human papillomaviruses. Princess Takamatsu Symp, 22 239-48, 1991.

HU, J; POPE, M; BROWN, C; O'DOHERTY, U; MILLER, C J. Immunophenotypic characterization of simian immunodeficiency virus-infected dendritic cells in cervix, vagina, and draining lymph nodes of rhesus monkeys. Lab Invest, 78 (4) Apr 435-51, 1998.

HUBERT, P; VAN DEN BRULE, F; GIANNINI, S L; FRANZEN-DETROOZ, E; BONIVER, J; DELVENNE, P. Colonization of in vitro-formed cervical human papillomavirus-associated (pre)neoplastic lesions with dendritic cells: role of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. Am J Pathol, 154 (3) Mar 775-84, 1999.

HUGHES, R G; NORVAL, M; HOWIE, S E. Expression of major histocompatibility class II antigens by Langerhans' cells in cervical intraepithelial neoplasia. J Clin Pathol, 41 (3) Mar 253-9, 1988.

HUSSAIN, L A; KELLY, C G; FELLOWES, R; HECHT, E M; WILSON, J; CHAPMAN, M; LEHNER, T. Expression and gene transcript of Fc receptors for IgG, HLA class II antigens and Langerhans cells in human cervico-vaginal epithelium. Clin Exp Immunol, 90 (3) Dec 530-8, 1992.

INSINGA, R P; GLASS, A G; RUSH, B B. The health care costs of cervical human papillomavirus--related disease. Am J Obstet Gynecol, 191 (1) Jul 114-20, 2004.

JACYNTHO, C & ALMEIDA FILHO, G. Infecção Genital Feminina e Masculina. Revinter 1-4, 1994.

JAY, N & MOSCICKI, A B. Human papillomavirus infections in women with HIV disease: prevalence, risk, and management. AIDS Read, 10 (11) Nov 659-68, 2000.

JENKINS, D; TAY, S K; MADDOX, P H. Routine papillomavirus antigen staining of cervical punch biopsy specimens. J Clin Pathol, 40 (10) Oct 1212-6, 1987.

JIMENEZ-FLORES, R; MENDEZ-CRUZ, R; OJEDA-ORTIZ, J; MUNOZ-MOLINA, R; BALDERAS-CARRILLO, O; DE LA LUZ DIAZ-SOBERANES, M; LEBECQUE, S; SAELAND, S; DANERI-NAVARRO, A; GARCIA-CARRANCA, A; ULLRICH, S E; FLORES-ROMO, L. High-risk human papilloma virus infection decreases the frequency of dendritic Langerhans' cells in the human female genital tract. Immunology, 117 (2) Feb 220-8, 2006.

KADISH, A S; TIMMINS, P; WANG, Y; HO, G Y; BURK, R D; KETZ, J; HE, W; ROMNEY, S L; JOHNSON, A; ANGELETTI, R; ABADI, M. Regression of cervical intraepithelial neoplasia and loss of human papillomavirus (HPV) infection is associated with cell-mediated immune responses to an HPV type 16 E7 peptide. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 11 (5) May 483-8, 2002.

KAISERLIAN, D & DUBOIS, B. Dendritic cells and viral immunity: friends or foes? Semin Immunol, 13 (5) Oct 303-10, 2001.

KANESHIMA, E N; BIDOIA, C C G; GABRIEL, M; SUZUKI, L E; CONSOLARO, M E L. Aplicação do método PCR-RFLP para tipagem de HPV em infecções cervicais de pacientes atendidas no Lepac, Universidade Estadual de Maringá. Acta Scientiarum Maringá, 23 (3) 731-737, 2001.

KLAES, R; BENNER, A; FRIEDRICH, T; RIDDER, R; HERRINGTON, S; JENKINS, D; KURMAN, R J; SCHMIDT, D; STOLER, M; VON KNEBEL DOEBERITZ, M. p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. Am J Surg Pathol, 26 (11) Nov 1389-99, 2002.

KOSHIOL, J; SCHROEDER, J; JAMIESON, D J; MARSHALL, S W; DUERR, A; HEILIG, C M; SHAH, K V; KLEIN, R S; CU-UVIN, S; SCHUMAN, P; CELENTANO,

D;SMITH, J S. Smoking and Time to Clearance of Human Papillomavirus Infection in HIV-Seropositive and HIV-Seronegative Women
10.1093/aje/kwj165. Am. J. Epidemiol. June 14, 2006 kwj165, 2006.

LEON CRUZ, G Y & FAXAS, M E. Cáncer de cuello uterino: aspectos inmunológicos y genéticos de mayor relevancia.. Rev cubana med, vol.43, no.1, (ene-feb) p.0-0, 2004.

LEVI, G; FELDMAN, J; HOLMAN, S; SALARIEH, A; STRICKLER, H D; ALTER, S;MINKOFF, H. Relationship between HIV viral load and Langerhans cells of the cervical epithelium
doi:10.1111/j.1341-8076.2005.00267.x. Journal of Obstetrics and Gynaecology Research, 31 (2) 178-184, 2005.

LEVI, J E; FERNANDES, S; TATENO, A F; MOTTA, E; LIMA, L P; ELUF-NETO, J;PANNUTI, C S. Presence of multiple human papillomavirus types in cervical samples from HIV-infected women. Gynecol Oncol, 92 (1) Jan 225-31, 2004.

LEVI, J E; FINK, M C; CANTO, C L; CARRETIERO, N; MATSUBARA, R; LINHARES, I; DAS DORES, G B; CASTELO, A; SEGURADO, A; UIP, D E;ELUF, J J. Human papillomavirus prevalence, viral load and cervical intraepithelial neoplasia in HIV-infected women. Braz J Infect Dis, 6 (3) Jun 129-35, 2002.

LEVINE, A. Cervical Cancer and Cervical Intra-Epithelial Neoplasia: Medscape 1999.

LEVINE, W C; POPE, V; BHOOMKAR, A; TAMBE, P; LEWIS, J S; ZAIDI, A A; FARSHY, C E; MITCHELL, S;TALKINGTON, D F. Increase in endocervical CD4 lymphocytes among women with nonulcerative sexually transmitted diseases. J Infect Dis, 177 (1) Jan 167-74, 1998.

LI, M. The effect of oestrogen on human vaginal susceptibility to HIV-1 infection. AIDS. Barcelona, 2002. p.

LONGWORTH, M S & LAIMINS, L A. Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia. Microbiol Mol Biol Rev, 68 (2) Jun 362-72, 2004.

LORENZATO, F; SINGER, A; MOULD, T; SANTOS, L C; MAIA, A;CARIRI, L. Cervical cancer detection by hybrid capture and evaluation of local risk factors. Int J Gynaecol Obstet, 73 (1) Apr 41-6, 2001.

LUNGU, O; SUN, X W; FELIX, J; RICHART, R M; SILVERSTEIN, S;WRIGHT, T C, JR. Relationship of human papillomavirus type to grade of cervical intraepithelial neoplasia. Jama, 267 (18) May 13 2493-6, 1992.

MACATONIA, S E; GOMPELS, M; PINCHING, A J; PATTERSON, S;KNIGHT, S C. Antigen-presentation by macrophages but not by dendritic cells in human immunodeficiency virus (HIV) infection. Immunology, 75 (4) Apr 576-81, 1992.

- MADDOX, P H; BARTON, S E; JENKINS, D. S-100 sensitivity as a marker for Langerhans' cells. Am J Obstet Gynecol, 160 (3) Mar 767-8, 1989.
- MADDOX, P H; TAY, S K; JENKINS, D. A new fixed cryosection technique for the simultaneous immunocytochemical demonstration of T6 and S100 antigens. Histochem J, 19 (1) Jan 35-8, 1987.
- MAIMAN, M; FRUCHTER, R G; CLARK, M; ARRASTIA, C D; MATTHEWS, R; GATES, E J. Cervical cancer as an AIDS-defining illness. Obstet Gynecol, 89 (1) Jan 76-80, 1997.
- MAIMAN, M; FRUCHTER, R G; SERUR, E; LEVINE, P A; ARRASTIA, C D; SEDLIS, A. Recurrent cervical intraepithelial neoplasia in human immunodeficiency virus-seropositive women. Obstet Gynecol, 82 (2) Aug 170-4, 1993.
- MAIMAN, M; FRUCHTER, R G; SERUR, E; REMY, J C; FEUER, G; BOYCE, J. Human immunodeficiency virus infection and cervical neoplasia. Gynecol Oncol, 38 (3) Sep 377-82, 1990.
- MARKOWITZ, M; SAAG, M; POWDERLY, W G; HURLEY, A M; HSU, A; VALDES, J M; HENRY, D; SATTLER, F; LA MARCA, A; LEONARD, J M; ET AL. A preliminary study of ritonavir, an inhibitor of HIV-1 protease, to treat HIV-1 infection. N Engl J Med, 333 (23) Dec 7 1534-9, 1995.
- MARRAZZO, J M; KOUTSKY, L A; KIVIAT, N B; KUYPERS, J M; STINE, K. Papanicolaou test screening and prevalence of genital human papillomavirus among women who have sex with women. Am J Public Health, 91 (6) Jun 947-52, 2001.
- MARTINEZ, E I M. Densidade de células de Langerhans em mulheres com vulva normal e em portadoras de HPV vulvar. Tese. Departamento Materno-Infantil., Universidade de Pernambuco, Recife, 1997.
- MASSAD, L S; AHDIEH, L; BENNING, L; MINKOFF, H; GREENBLATT, R M; WATTS, H; MIOTTI, P; ANASTOS, K; MOXLEY, M; MUDERSPACH, L I; MELNICK, S. Evolution of cervical abnormalities among women with HIV-1: evidence from surveillance cytology in the women's interagency HIV study. J Acquir Immune Defic Syndr, 27 (5) Aug 15 432-42, 2001.
- MASSAD, L S; RIESTER, K A; ANASTOS, K M; FRUCHTER, R G; PALEFSKY, J M; BURK, R D; BURNS, D; GREENBLATT, R M; MUDERSPACH, L I; MIOTTI, P. Prevalence and predictors of squamous cell abnormalities in Papanicolaou smears from women infected with HIV-1. Women's Interagency HIV Study Group. J Acquir Immune Defic Syndr, 21 (1) May 1 33-41, 1999.
- MATORRAS, R; ARICETA, J M; REMENTERIA, A; CORRAL, J; GUTIERREZ DE TERAN, G; DIEZ, J; MONTOYA, F; RODRIGUEZ-ESCUADERO, F J. Human

immunodeficiency virus-induced immunosuppression: a risk factor for human papillomavirus infection. Am J Obstet Gynecol, 164 (1 Pt 1) Jan 42-4, 1991.

MATOS, Y F; COSTA, H L; FAUNDES, A E. Prevalence of cervical squamous intraepithelial lesions in women with HIV. Int J Gynaecol Obstet, 83 (1) Oct 63-4, 2003.

MC ARDLE, J P & MULLER, H K. Quantitative assessment of Langerhans' cells in human cervical intraepithelial neoplasia and wart virus infection. Am J Obstet Gynecol, 154 (3) Mar 509-15, 1986.

MEISELS, A & FORTIN, R. Condylomatous lesions of the cervix and vagina. I. Cytologic patterns. Acta Cytol, 20 (6) Nov-Dec 505-9, 1976.

MELO, V H; ARAÚJO, A C L; RIO, S M P; CASTRO, L P F; AZEVEDO, A A; CASTRO, M M. Problemas Ginecológicos mais Frequentes em Mulheres Soropositivas para o HIV. RBGO, 25 (9) 661-6, 2003.

MEMAR, O M; ARANY, I; TYRING, S K. Skin-associated lymphoid tissue in human immunodeficiency virus-1, human papillomavirus, and herpes simplex virus infections. J Invest Dermatol, 105 (1 Suppl) Jul 99S-104S, 1995.

MILLER, C J. Localization of Simian immunodeficiency virus-infected cells in the genital tract of male and female Rhesus macaques. J Reprod Immunol, 41 (1-2) Dec 331-9, 1998.

MINKOFF, H; AHDIEH, L; MASSAD, L S; ANASTOS, K; WATTS, D H; MELNICK, S; MUDERSPACH, L; BURK, R; PALEFSKY, J. The effect of highly active antiretroviral therapy on cervical cytologic changes associated with oncogenic HPV among HIV-infected women. Aids, 15 (16) Nov 9 2157-64, 2001.

MINKOFF, H; FELDMAN, J; DEHOVITZ, J; LANDESMAN, S; BURK, R. A longitudinal study of human papillomavirus carriage in human immunodeficiency virus-infected and human immunodeficiency virus-uninfected women. Am J Obstet Gynecol, 178 (5) May 982-6, 1998.

MIYAGI, J; KINJO, T; TSUHAKO, K; HIGA, M; IWAMASA, T; KAMADA, Y; HIRAYASU, T. Extremely high Langerhans cell infiltration contributes to the favourable prognosis of HPV-infected squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the lung doi:10.1046/j.1365-2559.2001.01067.x. Histopathology, 38 (4) 355-367, 2001.

MONTEIRO JUNIOR, O. Neoplasia intra-epitelial cervical em mulheres soro-positivas para o Vírus da Imunodeficiência Humana. (Dissertação (Mestrado em Ginecologia e Obstetrícia)). Faculdade de Medicina,, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Botucatu - São Paulo, 2001. 88 p.

MOODLEY, J R; HOFFMAN, M; CARRARA, H; ALLAN, B R; COOPER, D D; ROSENBERG, L; DENNY, L E; SHAPIRO, S; WILLIAMSON, A L. HIV and pre-

neoplastic and neoplastic lesions of the cervix in South Africa: a case-control study. BMC Cancer, 6 135, 2006.

MORELLI, A E; BELARDI, G; DIPAOLA, G; PAREDES, A; FAINBOIM, L. Cellular subsets and epithelial ICAM-1 and HLA-DR expression in human papillomavirus infection of the vulva. Acta Derm Venereol, 74 (1) Jan 45-50, 1994.

MORELLI, A E; DI PAOLA, G; FAINBOIM, L. Density and distribution of Langerhans cells in the human uterine cervix. Arch Gynecol Obstet, 252 (2) 65-71, 1992.

MORELLI, A E; SANANES, C; DI PAOLA, G; PAREDES, A; FAINBOIM, L. Relationship between types of human papillomavirus and Langerhans' cells in cervical condyloma and intraepithelial neoplasia. Am J Clin Pathol, 99 (2) Feb 200-6, 1993.

MORRIS, H H; GATTER, K C; STEIN, H; MASON, D Y. Langerhans' cells in human cervical epithelium: an immunohistological study. Br J Obstet Gynaecol, 90 (5) May 400-11, 1983a.

MORRIS, H H; GATTER, K C; SYKES, G; CASEMORE, V; MASON, D Y. Langerhans' cells in human cervical epithelium: effects of wart virus infection and intraepithelial neoplasia. Br J Obstet Gynaecol, 90 (5) May 412-20, 1983b.

MOSCICKI, A B; PALEFSKY, J; GONZALES, J; SCHOOLNIK, G K. Human papillomavirus infection in sexually active adolescent females: prevalence and risk factors. Pediatr Res, 28 (5) Nov 507-13, 1990.

MOTA, F; RAYMENT, N; CHONG, S; SINGER, A; CHAIN, B. The antigen-presenting environment in normal and human papillomavirus (HPV)-related premalignant cervical epithelium. Clin Exp Immunol, 116 (1) Apr 33-40, 1999.

MOTA, F F; RAYMENT, N B; KANAN, J H; SINGER, A; CHAIN, B M. Differential regulation of HLA-DQ expression by keratinocytes and Langerhans cells in normal and premalignant cervical epithelium. Tissue Antigens, 52 (3) Sep 286-93, 1998.

MUÑOZ, N; BOSCH, F X; DE SANJOSE, S; HERRERO, R; CASTELLSAGUE, X; SHAH, K V; SNIJDERS, P J; MEIJER, C J. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med, 348 (6) Feb 6 518-27, 2003.

MUÑOZ, N; FRANCESCHI, S; BOSETTI, C; MORENO, V; HERRERO, R; SMITH, J S; SHAH, K V; MEIJER, C J; BOSCH, F X. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. Lancet, 359 (9312) Mar 30 1093-101, 2002.

NADAIS, R F; CAMPANER, A B; PIATO, S; LONGO GALVAO, M A; DOS SANTOS, R E; AOKI, T. Langerhans' cells and smoking in intraepithelial neoplasia of the cervix. Gynecol Oncol, 102 (2) Aug 356-60, 2006.

NAKANO, T; OKA, K; ARAI, T; MORITA, S; TSUNEMOTO, H. Prognostic significance of Langerhans' cell infiltration in radiation therapy for squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Arch Pathol Lab Med, 113 (5) May 507-11, 1989.

NICOL, A F; FERNANDES, A T; BONECINI-ALMEIDA MDA, G. Immune response in cervical dysplasia induced by human papillomavirus: the influence of human immunodeficiency virus-1 co-infection -- review. Mem Inst Oswaldo Cruz, 100 (1) Feb 1-12, 2005.

O' MALLEY C, D; SHEMA, S J; CLARKE, L S; CLARKE, C A; PERKINS, C I. Medicaid Status and Stage at Diagnosis of Cervical Cancer. Am J Public Health Oct 31, 2006.

OLAITAN, A; JOHNSON, M A; MACLEAN, A; POULTER, L W. The distribution of immunocompetent cells in the genital tract of HIV-positive women. Aids, 10 (7) Jun 759-64, 1996.

ORLANDO, G; FASOLO, M M; SCHIAVINI, M; SIGNORI, R; CARGNEL, A. Role of highly active antiretroviral therapy in human papillomavirus-induced genital dysplasia in HIV-1-infected patients. Aids, 13 (3) Feb 25 424-5, 1999.

OSTOR, A G. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. Int J Gynecol Pathol, 12 (2) Apr 186-92, 1993.

PALEFSKY, J. HPV infection and HPV-associated neoplasia in immunocompromised women (CHAPTER 5). International Journal of Gynecology & Obstetrics Prevention and Treatment of HPV Associated Disease in the HPV Vaccine Era, 94 (Supplement 1) 2006/11 S56-S64, 2006a.

_____. Human papillomavirus-related tumors in HIV. Curr Opin Oncol, 18 (5) Sep 463-8, 2006b.

PALEFSKY, J M; MINKOFF, H; KALISH, L A; LEVINE, A; SACKS, H S; GARCIA, P; YOUNG, M; MELNICK, S; MIOTTI, P; BURK, R. Cervicovaginal Human Papillomavirus Infection in Human Immunodeficiency Virus-1 (HIV)-Positive and High-Risk HIV-Negative Women
10.1093/jnci/91.3.226. J Natl Cancer Inst, 91 (3) February 3, 1999 226-236, 1999.

PARKIN, D M; BRAY, F; FERLAY, J; PISANI, P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. Int J Cancer, 94 (2) Oct 15 153-6, 2001.

_____. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin, 55 (2) Mar-Apr 74-108, 2005.

PATTERSON, B K; LANDAY, A; SIEGEL, J N; FLENER, Z; PESSIS, D; CHAVIANO, A; BAILEY, R C. Susceptibility to human immunodeficiency virus-1 infection of human foreskin and cervical tissue grown in explant culture. Am J Pathol, 161 (3) Sep 867-73, 2002.

PEREIRA, C R N; ROSA, M L G; VASCONCELOS, G A L B M; FARIA, P C P; CAVALCANTI, S M B; OLIVEIRA, L H S. Human papillomavirus prevalence and predictors for cervical cancer among high-risk women from Rio de Janeiro, Brazil doi:10.1111/j.1525-1438.2007.00844.x. International Journal of Gynecological Cancer, 17 (3) 651-660, 2007.

PEREIRA, M G. Epidemiologia: Teoria e Prática. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2001

POLLACK, A E; BALKIN, M S; DENNY, L. Cervical cancer: A call for political will. Int J Gynaecol Obstet, 94 (3) Sep 333-42, 2006.

POPPE, W A; DRIJKONINGEN, M; IDE, P S; LAUWERYNS, J M; VAN ASSCHE, F A. Lymphocytes and dendritic cells in the normal uterine cervix. An immunohistochemical study. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 81 (2) Dec 277-82, 1998.

POPPE, W A; IDE, P S; DRIJKONINGEN, M P; LAUWERYNS, J M; VAN ASSCHE, F A. Tobacco smoking impairs the local immunosurveillance in the uterine cervix. An immunohistochemical study. Gynecol Obstet Invest, 39 (1) 34-8, 1995.

POPPE, W A; PEETERS, R; DRIJKONINGEN, M; IDE, P S; DAENENS, P; LAUWERYNS, J M; VAN ASSCHE, F A. Cervical cotinine and macrophage-Langerhans cell density in the normal human uterine cervix. Gynecol Obstet Invest, 41 (4) 253-9, 1996.

PUDNEY, J; QUAYLE, A J; ANDERSON, D J. Immunological microenvironments in the human vagina and cervix: mediators of cellular immunity are concentrated in the cervical transformation zone. Biol Reprod, 73 (6) Dec 1253-63, 2005.

PUTS, J J; MOESKER, O; DE WAAL, R M; KENEMANS, P; VOOIJS, G P; RAMAEKERS, F C. Immunohistochemical identification of Langerhans cells in normal epithelium and in epithelial lesions of the uterine cervix. Int J Gynecol Pathol, 5 (2) 151-62, 1986.

REZZA, G; GIULIANI, M; BRANCA, M; BENEDETTO, A; MIGLIORE, G; GARBUGLIA, A R; D'UBALDO, C; PEZZOTTI, P; CAPPIELLO, G; POMPONI FORMICONI, D; SULIGOI, B; SCHIESARI, A; IPPOLITO, G; GIACOMINI, G. Determinants of squamous intraepithelial lesions (SIL) on Pap smear: the role of HPV infection and of HIV-1-induced immunosuppression. DIANAIDS Collaborative Study Group. Eur J Epidemiol, 13 (8) Dec 937-43, 1997.

RICHART, R M & WRIGHT, T C, JR. Human papillomavirus. Curr Opin Obstet Gynecol, 4 (5) Oct 662-9, 1992.

ROBINSON, W R; ANDERSEN, J; DARRAGH, T M; KENDALL, M A; CLARK, R; MAIMAN, M. Isotretinoin for low-grade cervical dysplasia in human immunodeficiency virus-infected women. Obstet Gynecol, 99 (5 Pt 1) May 777-84, 2002.

ROBINSON, W R; LUCK, M B; KENDALL, M A;DARRAGH, T M. The predictive value of cytologic testing in women with the human immunodeficiency virus who have low-grade squamous cervical lesions: a substudy of a randomized, phase III chemoprevention trial. Am J Obstet Gynecol, 188 (4) Apr 896-900, 2003.

ROSINI, S; CALTAGIRONE, S; TALLINI, G; LATTANZIO, G; DEMOPOULOS, R; PIANTELLI, M;MUSIANI, P. Depletion of stromal and intraepithelial antigen-presenting cells in cervical neoplasia in human immunodeficiency virus infection. Hum Pathol, 27 (8) Aug 834-8, 1996.

RUSSOMANO, F B. Recorrência de neoplasias intra-epiteliais cervicais tratadas pela exérese eletrocirúrgica da zona de transformação em uma coorte de mulheres infectadas pelo HIV no Rio de Janeiro, Brasil. Tese de Doutorado., 2003.

RYLANDER, E; RUUSUVAARA, L; ALMSTROMER, M W; EVANDER, M;WADELL, G. The absence of vaginal human papillomavirus 16 DNA in women who have not experienced sexual intercourse. Obstet Gynecol, 83 (5 Pt 1) May 735-7, 1994.

SANKARANARAYANAN, R & FERLAY, J. Worldwide burden of gynaecological cancer: the size of the problem. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 20 (2) Apr 207-25, 2006.

SASLOW, D; RUNOWICZ, C D; SOLOMON, D; MOSCICKI, A B; SMITH, R A; EYRE, H J;COHEN, C. American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. CA Cancer J Clin, 52 (6) Nov-Dec 342-62, 2002.

SCHIFFMAN, M H. Recent progress in defining the epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. J Natl Cancer Inst, 84 (6) Mar 18 394-8, 1992.

SCOTT, M; NAKAGAWA, M;MOSCICKI, A-B. Cell-Mediated Immune Response to Human Papillomavirus Infection
10.1128/CDLI.8.2.209-220.2001. Clin. Diagn. Lab. Immunol., 8 (2) March 1, 2001 209-220, 2001.

SHUTTER, J; ATKINS, K A; GHARTEY, K;HERZOG, T J. Clinical applications of immunohistochemistry in gynecological malignancies
doi:10.1111/j.1525-1438.2006.00759.x. International Journal of Gynecological Cancer, 17 (2) 311-315, 2007.

SIERRA-TORRES, C H; TYRING, S K;AU, W W. Risk contribution of sexual behavior and cigarette smoking to cervical neoplasia. International Journal of Gynecological Cancer, 13 (5) 617-625, 2003.

SILVA, R J O; REIS, A F F; RUSSOMANO, F B; FIALHO, S C A V;GRINSZTJN, B. Lesões intra-epiteliais do colo uterino em pacientes infectadas pelo HIV. J bras Doenças Sex Transm, 15 (3) 16-20, 2003.

SILVA, T T. Fatores de risco para neoplasia intraepitelial cervical em pacientes submetidas a avaliação morfológica e pesquisa de DNA-HPV. (Dissertação de doutorado). Departamento de Medicina Tropical, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004. 107 p.

SILVEIRA, M F & SANTOS, I S. Perfil de mulheres HIV positivo atendidas no Serviço de Assistência Especializada da Faculdade de Medicina - UFPel. J bras Doenças Sex Transm, 17 (4) 295-300, 2005.

SITAS, F; PACELLA-NORMAN, R; CARRARA, H; PATEL, M; RUFF, P; SUR, R; JENTSCH, U; HALE, M; ROWJI, P; SAFFER, D; CONNOR, M; BULL, D; NEWTON, R;BERAL, V. The spectrum of HIV-1 related cancers in South Africa. Int J Cancer, 88 (3) Nov 1 489-92, 2000.

SOPRACORDEVOLE, F; CAMPAGNUTTA, E; PARIN, A; VACCHER, E; VOLPE, R;SCARABELLI, C. Squamous intraepithelial cervical lesions in human immunodeficiency virus-seropositive women. J Reprod Med, 41 (8) Aug 586-90, 1996.

SOUTHERN, S A & HERRINGTON, C S. Molecular events in uterine cervical cancer. Sex Transm Infect, 74 (2) Apr 101-9, 1998.

SOUZA, N S T; MELO, V H;CASTRO, L P F. Histopathology accuracy for the diagnosis of HPV in cervical lesions of HIV-seropositive women. Rev. Bras. Ginecol. Obstet., Rio de Janeiro, v. 23, n. 6,. Rev. Bras. Ginecol. Obstet., 23 (6) 355-361, 2001.

SPINILLO, A; TENTI, P; BALTARO, F; ZAPPATORE, R; MIGLIORA, P;ZARA, F. The influence of human immunodeficiency virus infection on Langerhans cell counts in the normal cervical tissue. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol, 11 (4) Apr 1 414-6, 1996.

SPINILLO, A; TENTI, P; ZAPPATORE, R; DE SETA, F; SILINI, E;GUASCHINO, S. Langerhans' cell counts and cervical intraepithelial neoplasia in women with human immunodeficiency virus infection. Gynecol Oncol, 48 (2) Feb 210-3, 1993.

STOCKWIN, L H; MC GONAGLE, D; MARTIN, I G;BLAIR, G E. Dendritic cells: immunological sentinels with a central role in health and disease. Immunol Cell Biol, 78 (2) Apr 91-102, 2000.

STOLER, M H & SCHIFFMAN, M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. Jama, 285 (11) Mar 21 1500-5, 2001.

SUN, X W; KUHN, L; ELLERBROCK, T V; CHIASSON, M A; BUSH, T J;WRIGHT, T C, JR. Human papillomavirus infection in women infected with the human immunodeficiency virus. N Engl J Med, 337 (19) Nov 6 1343-9, 1997.

SZAREWSKI, A; MADDOX, P; ROYSTON, P; JARVIS, M; ANDERSON, M; GUILLEBAUD, J; CUZICK, J. The effect of stopping smoking on cervical Langerhans' cells and lymphocytes. Bjog, 108 (3) Mar 295-303, 2001.

TAY, S K & JENKINS, D. Langerhans cell population in early invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 29 (1) Feb 38-40, 1989.

TAY, S K; JENKINS, D; MADDOX, P; CAMPION, M; SINGER, A. Subpopulations of Langerhans' cells in cervical neoplasia. Br J Obstet Gynaecol, 94 (1) Jan 10-5, 1987.

UCHIMURA, N S; RIBALTA, J C; FOCCHI, G R; BARACAT, E C; UCHIMURA, T T. Influência do uso de anticoncepcionais hormonais orais sobre o número de células de Langerhans em mulheres com captura híbrida negativa para papilomavirus humano. Rev Bras Ginecol Obstet, 27 (12) 726-30, 2005.

UCHIMURA, N S; RIBALTA, J C; FOCCHI, J; BARACAT, E C; UCHIMURA, T T. Fatores biocomportamentais e as alterações no número das células de Langerhans. RBGO, 26 (4) 289-294, 2004a.

UCHIMURA, N S; RIBALTA, J C; FOCCHI, J; SIMOES, M J; UCHIMURA, T T; SILVA, E S. Evaluation of Langerhans' cells in human papillomavirus-associated squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. Clin Exp Obstet Gynecol, 31 (4) 260-2, 2004b.

VAN DUIN, M; SNIJDERS, P J; SCHRIJNEMAKERS, H F; VOORHORST, F J; ROZENDAAL, L; NOBBENHUIS, M A; VAN DEN BRULE, A J; VERHEIJEN, R H; HELMERHORST, T J; MEIJER, C J. Human papillomavirus 16 load in normal and abnormal cervical scrapes: an indicator of CIN II/III and viral clearance. Int J Cancer, 98 (4) Apr 1 590-5, 2002.

VAN DUIN, M; SNIJDERS, P J; VOSSEN, M T; KLAASSEN, E; VOORHORST, F; VERHEIJEN, R H; HELMERHORST, T J; MEIJER, C J; WALBOOMERS, J M. Analysis of human papillomavirus type 16 E6 variants in relation to p53 codon 72 polymorphism genotypes in cervical carcinogenesis. J Gen Virol, 81 (Pt 2) Feb 317-25, 2000.

VAYRYNEN, M; SYRJANEN, K; MANTYJARVI, R; CASTREN, O; SAARIKOSKI, S. Langerhans cells in human papillomavirus (HPV) lesions of the uterine cervix identified by the monoclonal antibody OKT-6. Int J Gynaecol Obstet, 22 (5) Oct 375-83, 1984.

VERNON, S D; REEVES, W C; CLANCY, K A; LAGA, M; ST LOUIS, M; GARY, H E, JR.; RYDER, R W; MANOKA, A T; ICENOGLE, J P. A longitudinal study of human papillomavirus DNA detection in human immunodeficiency virus type 1-seropositive and -seronegative women. J Infect Dis, 169 (5) May 1108-12, 1994.

VERNON, S D; UNGER, E R; PIPER, M A; SEVERIN, S T; WIKTOR, S Z; GHYS, P D; MILLER, D L; HOROWITZ, I R; GREENBERG, A E; REEVES, W C. HIV and human

papillomavirus as independent risk factors for cervical neoplasia in women with high or low numbers of sex partners. Sex Transm Infect, 75 (4) Aug 258-60, 1999.

VIAC, J; GUERIN-REVERCHON, I; CHARDONNET, Y; BREMOND, A. Langerhans cells and epithelial cell modifications in cervical intraepithelial neoplasia: correlation with human papillomavirus infection. Immunobiology, 180 (4-5) Jun 328-38, 1990.

VIAC, J; SOLER, C; CHARDONNET, Y; EUVRARD, S; SCHMITT, D. Expression of immune associated surface antigens of keratinocytes in human papillomavirus-derived lesions. Immunobiology, 188 (4-5) Aug 392-402, 1993.

VILLA, L L. CHAPTER 1 Biology of genital human papillomaviruses. International Journal of Gynecology & Obstetrics Prevention and Treatment of HPV Associated Disease in the HPV Vaccine Era, 94 (Supplement 1) 2006/11 S3-S7, 2006.

VILLA, L L; BERNARD, H U; KAST, M; HILDESHEIM, A; AMESTOY, G; FRANCO, E L. Past, present, and future of HPV research: highlights from the 19th International Papillomavirus Conference-HPV2001. Virus Res, 89 (2) Nov 163-73, 2002.

VILLA, L L & DENNY, L. CHAPTER 7 Methods for detection of HPV infection and its clinical utility. International Journal of Gynecology & Obstetrics Prevention and Treatment of HPV Associated Disease in the HPV Vaccine Era, 94 (Supplement 1) 2006/11 S71-S80, 2006.

WAGNER, T M; PEZZOTTI, P; VALDARCHI, C; REZZA, G. Different pattern of AIDS-defining diseases in persons responding to highly active antiretroviral therapy. J Acquir Immune Defic Syndr, 26 (4) Apr 1 394-5, 2001.

WALBOOMERS, J M; JACOBS, M V; MANOS, M M; BOSCH, F X; KUMMER, J A; SHAH, K V; SNIJDERS, P J; PETO, J; MEIJER, C J; MUNOZ, N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol, 189 (1) Sep 12-9, 1999.

WALBOOMERS, J M & MEIJER, C J. Do HPV-negative cervical carcinomas exist? J Pathol, 181 (3) Mar 253-4, 1997.

WALKER, F; ADLE-BIASSETTE, H; MADELENAT, P; HENIN, D; LEHY, T. Increased apoptosis in cervical intraepithelial neoplasia associated with HIV infection: implication of oncogenic human papillomavirus, caspases, and Langerhans cells. Clin Cancer Res, 11 (7) Apr 1 2451-8, 2005.

WILEY, D & MASONGSONG, E. Human papillomavirus: the burden of infection. Obstet Gynecol Surv, 61 (6 Suppl 1) Jun S3-14, 2006.

- WINER, R L; LEE, S K; HUGHES, J P; ADAM, D E; KIVIAT, N B; KOUTSKY, L A. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. Am J Epidemiol, 157 (3) Feb 1 218-26, 2003.
- WRIGHT JR, T C; ELLERBROCK, T V; CHIASSON, M A; VAN DEVANTER, N; SUN, X W. Cervical intraepithelial neoplasia in women infected with human immunodeficiency virus: prevalence, risk factors, and validity of Papanicolaou smears. New York Cervical Disease Study. Obstet Gynecol, 84 (4) Oct 591-7, 1994a.
- WRIGHT JR, T C; KOULOS, J; SCHNOLL, F; SWANBECK, J; ELLERBROCK, T V; CHIASSON, M A; RICHART, R M. Cervical intraepithelial neoplasia in women infected with the human immunodeficiency virus: outcome after loop electrosurgical excision. Gynecol Oncol, 55 (2) Nov 253-8, 1994b.
- WRIGHT JR., T C & SUN, X W. Anogenital papillomavirus infection and neoplasia in immunodeficient women. Obstet Gynecol Clin North Am, 23 (4) Dec 861-93, 1996.
- WRIGHT, T C, JR. & RICHART, R M. Role of human papillomavirus in the pathogenesis of genital tract warts and cancer. Gynecol Oncol, 37 (2) May 151-64, 1990.
- XI, L F; CARTER, J J; GALLOWAY, D A; KUYPERS, J; HUGHES, J P; LEE, S K; ADAM, D E; KIVIAT, N B; KOUTSKY, L A. Acquisition and natural history of human papillomavirus type 16 variant infection among a cohort of female university students. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 11 (4) Apr 343-51, 2002.
- XIMENES, R A A & ARAÚJO, T V B. Validade Interna em Estudos de Corte Transversal: Reflexões a partir de uma Investigação sobre Esquistossomose Mansônica e Condições Socioeconômicas. Cad. Saúde Públ., 11 (1) jan/mar 118-127, 1995.
- YAO, V; PLATELL, C; HALL, J C. Dendritic cells. ANZ J Surg, 72 (7) Jul 501-6, 2002.
- YLITALO, N; SORENSEN, P; JOSEFSSON, A M; MAGNUSSON, P K; ANDERSEN, P K; PONTEN, J; ADAMI, H O; GYLLENSTEN, U B; MELBYE, M. Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study. Lancet, 355 (9222) Jun 24 2194-8, 2000.
- YONG, X & STREILEIN, J W. Regulation of Langerhans cell function via blood borne factor(s). Journal of Dermatological Science, 12 1996 263-274, 1996.
- ZENKE, M & HIERONYMUS, T. Towards an understanding of the transcription factor network of dendritic cell development. Trends Immunol, 27 (3) Mar 140-5, 2006.
- ZUR HAUSEN, H. Viruses in human cancers. Science, 254 (5035) Nov 22 1167-73, 1991.

15. ANEXOS

Anexo 1

CEP/CISAM – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

TÍTULO DO PROJETO Associação Entre a Pensidade de Celso
de Langehans e o Grau de Neoplasia Intraepitelial
Plenaral em Mulheres HIV-Positivas

PESQUISADOR PRINCIPAL: Stefan Welkove

PARECER DO RELATOR - ANÁLISE:

Distribuído em 27/08/03

O referido projeto trata-se de uma pes-
quisa do tipo observacional, do tipo caso -
controle, sem ônus para a institui-
ção.

Não há impereções éticas. O termo de
consentimento livre e esclarecido está
coerente com os objetivos da pesquisa
e não fere a integridade, a voluntari-
dade e a garantia de assistência médica
dos indivíduos do estudo.

2. VOTO DO RELATOR: Aprovado

Assinatura do Relator

Stefan Welkove Data 24/09/03

PARECER FINAL DO CEP/CISAM

Recife, 29 / Outubro / 2003

Antônio Carlos Pereira
Membro do Comitê

Paulo 9313
Membro do Comitê

Marina Aparecida Bezerra
Membro do Comitê

Anexo 2

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Meu nome é Stefan Welkovic e sou médico do ambulatório de prevenção de câncer do colo do útero deste Hospital. Temos notado o aparecimento mais frequente de doenças graves do colo uterino em mulheres que têm o teste do HIV positivo. A senhora apresentou uma anormalidade no exame preventivo que vai necessitar uma biópsia, ou seja, a retirada indolor de um pequeno pedaço do colo do útero. Estou realizando uma pesquisa para verificar o estado das defesas do organismo no colo uterino em mulheres que, como a senhora, apresentam anormalidades no exame preventivo e que necessitam de biópsia, para com a sua colaboração contribuir para melhorar o estudo sobre a ação do vírus do HIV no colo uterino. Seu atendimento neste ambulatório não depende desta autorização, o que significa que a senhora concordando ou não em nos ajudar, terá a mesma atenção de todas as outras frequentadoras deste Serviço, e que a senhora poderá suspender o seu consentimento em qualquer momento desta pesquisa.

Obrigado,

A senhora concorda em participar desta pesquisa?

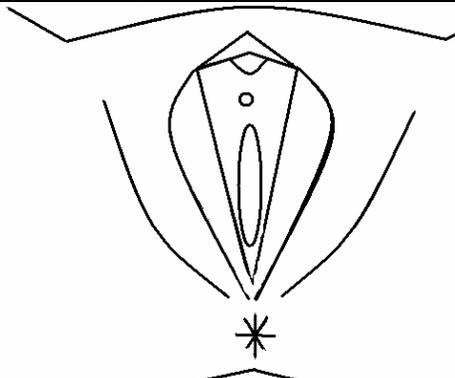
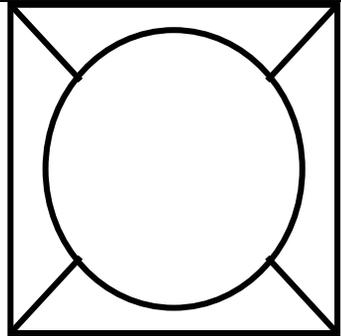
Resposta: SIM

ASSINATURA OU IMPRESSÃO DACTILOSCÓPICA

Recife ____ / ____ / _____

Anexo 3

AMBULATÓRIO DE DOENÇAS DO TRATO GENITAL INFERIOR E COLPOSCOPIA

DATA: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> NOME: _____ REGISTRO: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> IDADE: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> ANOS		
1.º RS: <input type="checkbox"/> ANOS No. PS: _____ DUM: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> G: _____ P: _____ A: _____ MAC: _____ CCO ATUAL: _____ DATA: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> COLPOSCOPIA ANTERIOR: _____ DATA: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> FUMA: <input type="checkbox"/> NÃO <input type="checkbox"/> SIM _____ CIGARROS/DIA HPV: <input type="checkbox"/> NÃO <input type="checkbox"/> SIM HIV(+): <input type="checkbox"/> NÃO <input type="checkbox"/> SIM CD4+: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> CV: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> SEM TARV: - <input type="checkbox"/> NÃO <input type="checkbox"/> SIM CAUTERIZAÇÃO: <input type="checkbox"/> NÃO <input type="checkbox"/> SIM BIÓPSIA DE COLO: DATA: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>		
Exame macroscópico Vulva: <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Anormal Vagina: <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Anormal Colo: <input type="checkbox"/> pequeno <input type="checkbox"/> médio <input type="checkbox"/> grande <input type="checkbox"/> plano <input type="checkbox"/> ausente <input type="checkbox"/> amputado/caf <input type="checkbox"/> não visível <input type="checkbox"/> s/ mácula <input type="checkbox"/> c/ mácula não friável <input type="checkbox"/> c/ mácula friável <input type="checkbox"/> outras alt.: _____ OCE: <input type="checkbox"/> circular <input type="checkbox"/> transverso <input type="checkbox"/> irregular <input type="checkbox"/> estenosado <input type="checkbox"/> não visível Muco: <input type="checkbox"/> ausente <input type="checkbox"/> translúcido <input type="checkbox"/> turvo/purulento Conteúdo vaginal: <input type="checkbox"/> branco <input type="checkbox"/> grumoso <input type="checkbox"/> leitoso <input type="checkbox"/> amarelado <input type="checkbox"/> esverdeado <input type="checkbox"/> sanguíneo <input type="checkbox"/> outro _____ Quantidade: <input type="checkbox"/> ausente <input type="checkbox"/> escassa <input type="checkbox"/> moderada <input type="checkbox"/> acentuada Teste de whiff: <input type="checkbox"/> negativo <input type="checkbox"/> positivo <input type="checkbox"/> não realizado		
Exame macroscópico da vulva e colposcópico		
	jec ant: _____ post: _____ UG: _____ SCHILLER: <input type="checkbox"/> neg <input type="checkbox"/> pos iodo: <input type="checkbox"/> positivo <input type="checkbox"/> negativo <input type="checkbox"/> claro <input type="checkbox"/> malhado	
		
obs: _____		
ACHADOS NORMAIS <input type="checkbox"/> orifícios glandulares <input type="checkbox"/> ilhotas de ep.glandular <input type="checkbox"/> linguetas de ep.glandular <input type="checkbox"/> cistos de nabóth <input type="checkbox"/> epitélio escamoso original <input type="checkbox"/> ectopia papilar <input type="checkbox"/> ectopia polipóide <input type="checkbox"/> pseudo-ectopia	ACHADOS ANORMAIS <input type="checkbox"/> Epitélio acetobranco: <input type="checkbox"/> tênue <input type="checkbox"/> opaco <input type="checkbox"/> pontilhado: <input type="checkbox"/> fino <input type="checkbox"/> grosseiro <input type="checkbox"/> mosaico: <input type="checkbox"/> regular <input type="checkbox"/> irregular <input type="checkbox"/> leucoplasia <input type="checkbox"/> vasos atípicos <input type="checkbox"/> iodo negativo não acetobranco <input type="checkbox"/> relevo micropapilar BORDOS: <input type="checkbox"/> REGULARES <input type="checkbox"/> IRREGULARES LOCALIZAÇÃO: <input type="checkbox"/> FORA DA ZT <input type="checkbox"/> DENTRO DA ZT	ACHADOS VÁRIOS <input type="checkbox"/> COLPITE: <input type="checkbox"/> difusa <input type="checkbox"/> focal <input type="checkbox"/> mista <input type="checkbox"/> mosaiciforme <input type="checkbox"/> discreta <input type="checkbox"/> moderada <input type="checkbox"/> SINAIS DE ATROFIA: <input type="checkbox"/> leve <input type="checkbox"/> moderada <input type="checkbox"/> acentuada <input type="checkbox"/> OUTROS _____ <input type="checkbox"/> pólipo <input type="checkbox"/> erosão <input type="checkbox"/> hematoma <input type="checkbox"/> condiloma <input type="checkbox"/> micropapilas não acetobranças
ACHADOS INSATISFATÓRIOS: <input type="checkbox"/> COLO NÃO VISÍVEL <input type="checkbox"/> JEC NÃO VISÍVEL <input type="checkbox"/> ATROFIA INTENSA <input type="checkbox"/> COLPITE INTENSA		
ACHADOS SUGESTIVOS DE INVASÃO: _____		
CONDUTA		
Realizada: <input type="checkbox"/> ECC <input type="checkbox"/> ATA <input type="checkbox"/> Podofilina <input type="checkbox"/> exeresse de pólipo <input type="checkbox"/> biópsia <input type="checkbox"/> CAF. OBS: _____	Medicada com _____ Voltar com <input type="checkbox"/> MESES <input type="checkbox"/> após estrogênio terapia <input type="checkbox"/> após tratar colpíte <input type="checkbox"/> após parto	

Anexo 4

QUESTIONÁRIO

Seção 1.Dados Gerais	
1.1 – Serviço de Saúde 1. CISAM <input type="checkbox"/> 2. Correia Picanço 3. Outros	1.2 – Número do Prontuário <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
Seção 2.Dados do indivíduo	
2.1 - Data da Entrevista ____/____/____	
2.2 - Nome:	2.3 - Qual a sua idade? <input type="text"/> <input type="text"/>
2.4 Atualmente você é: 1. Solteira 2. Casada 3. Vive junto <input type="checkbox"/> 4. Separada / divorciada 5. Viúva 8. Não Sabe Informar 9. Inaplicável	2.5 - Quem é o chefe da sua família? 1. O parceiro 2. O pai <input type="checkbox"/> 3. A mãe 4. A entrevistada 8. Não Sabe Informar 9. Inaplicável
2.6 - Em que cidade mora? 01. Recife, 09. Ipojuca, 02. Olinda, 10. Abreu e lima, 03. Paulista, 11. Moreno, 04. Igarassu, 12. Camaragibe, 05. Itapissuma, 13. São Lourenço, 06. Itamaracá, 14. Interior 07. Cabo, 15. Outras Cidade <input type="text"/> <input type="text"/>	2.7 - Sabe ler e escrever? 1.Sim 2.Não <input type="checkbox"/> 8.Não Informou 9.Inaplicável
2.9 – Em que curso você está ? 1.Ensino Fundamental ou primeiro grau 2.Ensino Médio ou Segundo Grau 3.Pré Vestibular 4.Superior – Graduação <input type="checkbox"/> 5.Mestrado ou Doutorado 6. Não Concluiu Nenhum Curso 8.Não Sabe Informar	2.8 - Freqüenta escola? 1. Sim 2. Não (passe p/ 2.10) <input type="checkbox"/> 8. Não Sabe Informar 9. Inaplicável
	2.10 - Freqüentou escola? 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não (passe p/2.12) 8.Não Sabe Informar 9.Inaplicável

2.11 - Qual o curso que completou? 1. Ensino Fundamental ou primeiro grau 2. Ensino Médio ou Segundo Grau 3. Pré Vestibular <input type="checkbox"/> 4. Superior – Graduação 5. Mestrado ou Doutorado 6. Não Concluiu Nenhum Curso 8. Não Sabe Informar	
2.12 - Você trabalhou em alguma atividade remunerada na semana passada? 1. Sim 2. Não (siga para a questão 2.14) <input type="checkbox"/>	2.13 - Qual foi essa atividade? (especificar) _____ <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
2.14 - Você trabalhou em alguma atividade remunerada nos últimos 6 meses? 1. Sim 2. Não (siga para a questão 2.16) <input type="checkbox"/>	2.15 - Qual era essa atividade? _____ <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
2.16 - Você já trabalhou em alguma atividade remunerada? 1. Sim 2. Não (siga para a questão 2.18) <input type="checkbox"/>	2.17 - Qual foi essa atividade? _____ <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
2.18 - Qual seu rendimento no mês passado? R\$ 0. Não teve <input type="checkbox"/> 8. Não informou	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> , <input type="text"/> <input type="text"/>
2.19 – Qual foi o rendimento do chefe da sua família no mês passado? 0. Não teve <input type="checkbox"/> 8. Não informou	<input type="text"/>
Seção 3 – História de contato.	
3.1 - Você já fez o teste para HIV? 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não	3.2 - Qual foi o resultado do teste? 1. Positivo <input type="checkbox"/> 2. Negativo 8. Não informou 9. Inaplicável
3.3 - Fez tratamento dentário no último ano? 1. Sim 2. Não <input type="checkbox"/> 8. Não informou	3.4 - Fez tratamento dentário nos últimos 5 anos? 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não 8. Não informou

3.5 – Fez transfusão de sangue no último ano? 1.Sim 2.Não 8.Não informou <input type="checkbox"/>	3.6 – Fez transfusão de sangue nos últimos 5 anos? 1.Sim 2.Não 8.Não informou <input type="checkbox"/>
3.7 – Tem ou teve tatuagem? 1.Sim 2.Não 8.Não informou <input type="checkbox"/>	3.8 - Tem ou teve piercing? 1.Sim 2.Não 8.Não informou <input type="checkbox"/>
3.9 - Divide objetos cortantes como tesoura, lâmina de barbear, navalha, alicate com outras pessoas em casa ou em salões de beleza (manicure, pedicure, etc.)? 1.Sim 2.Não 3. Às vezes <input type="checkbox"/>	3.10 – Há quanto tempo você sabe que é HIV positiva ? 1. Meses 2. Anos <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
3.11 – Como você acha que contraiu o HIV? 1.Transfusão sanguínea 2.Objetos cortantes 3.Relações sexuais 8.Não informou 9.Inaplicável <input type="checkbox"/>	
Seção 4 – Atividade sexual, história reprodutiva e métodos anticoncepcionais.	
4.1 - Você já iniciou sua vida sexual? 1.Sim 2.Não (siga para a seção 5) 8.Não informou <input type="checkbox"/>	4.2 - Quantos anos você tinha quando teve a primeira relação sexual? 99 = ignorado <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
4.3 - Você tem algum parceiro sexual? 1.Sim 2.Não (siga para a questão 4.5) 8.Não informou <input type="checkbox"/>	4.4 – Você já teve outro parceiro sexual além do atual? 1.Sim 2.Não 8.Não informou <input type="checkbox"/>
4.5 – Quantos parceiros sexuais você teve nos últimos 12 meses? <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	4.6 - Você já teve relações sexuais com parceiro(s) que você sabia que era(m) HIV-positivo(s)? 1.Sim 2.Não 8.Não informou <input type="checkbox"/>
4.7 - Você já manteve relações sexuais com parceiro que faz sexo com pessoa do mesmo sexo? 1.Sim 2.Não 8.Não informou <input type="checkbox"/>	4.8 - Você tem ou teve alguma doença que se pega através do sexo? 1.Sim 2.Não 8.Não informou <input type="checkbox"/>

<p>4.9 – Qual foi essa doença?</p> <p>_____</p>	<p>4.10 - Você costuma ou costumava praticar sexo oral?</p> <p>1.Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2.Não</p> <p>3.Às vezes</p> <p>8.Não informou</p>
<p>4.11 - Você costuma ou costumava praticar sexo anal?</p> <p>1.Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2.Não</p> <p>3.Às vezes</p> <p>8.Não informou</p>	<p>4.12 - Você costuma ou costumava praticar sexo com mais de uma pessoa ao mesmo tempo?</p> <p>1.Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2.Não</p> <p>3.Às vezes</p> <p>8.Não Informou</p>
<p>- Você costuma ou costumava praticar sexo com pessoa do mesmo sexo?</p> <p>1.Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2.Não</p> <p>3.Às vezes</p> <p>4.Não Informou</p>	<p>4.14 - Você tem filhos?</p> <p>1.Sim</p> <p>2.Não (siga para a questão 4.15) <input type="checkbox"/></p>
<p>4.15 – Quantos(filhos)?</p> <p><input type="text"/> <input type="text"/></p>	<p>4.16 - Você já teve algum aborto?</p> <p>1. Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2. Não (siga para questão 4.18)</p> <p>8. Não informou</p>
<p>4.17 –Quantos (abortos)?</p> <p><input type="checkbox"/></p>	<p>4.18 – Você está grávida?</p> <p>1.Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2.Não</p> <p>8.Não informou</p>
<p>4.19 – Você tem trompas ligadas?</p> <p>1.Sim</p> <p>2.Não</p> <p>8.Não informou <input type="checkbox"/></p>	<p>4.20 - Você está evitando engravidar no momento?</p> <p>1.Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2.Não</p> <p>8.Não informou</p>
<p>4.21 – Você toma pílula anticoncepcional?</p> <p>1. Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2. Não (siga para questão 4.23)</p>	<p>4.22 – Há quanto tempo toma pílula?</p> <p>1. Meses <input type="checkbox"/></p> <p>2. Anos <input type="text"/> <input type="text"/></p>
<p>4.23 – Você já tomou pílula anticoncepcional antes?</p> <p>1. Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2. Não (siga para questão 4.26)</p>	<p>4.24 – Há quanto tempo parou de tomar ?</p> <p>1. Meses <input type="checkbox"/></p> <p>2. Anos <input type="text"/> <input type="text"/></p>
<p>4.25 – Tomou pílula por quanto tempo?</p> <p>1. Meses <input type="checkbox"/></p> <p>2. Anos <input type="text"/> <input type="text"/></p>	<p>4.26 – Você toma injeção para evitar gravidez?</p> <p>1. Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2. Não (siga para questão 4.28)</p>

<p>4.27 – Há quanto tempo você toma injeção para evitar gravidez? <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/></p> <p>1. Meses 2. Anos</p>	<p>4.28 - Você já tomou injeção para evitar gravidez antes? <input type="checkbox"/></p> <p>1. Sim 2.Não(siga para questão 4.31)</p>
<p>4.29 – Há quanto tempo parou de tomar essa injeção? <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/></p> <p>1. Meses 2. Anos</p>	<p>4.30 – Tomou essa injeção por quanto tempo? <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/></p> <p>1. Meses 2. Anos</p>
<p>4.31 – Você já ouviu falar em camisinha masculina ?</p> <p>1. Sim 2.Não (siga para a questão 4.34) <input type="checkbox"/></p> <p>4.33 – Antes de saber que era portadora do vírus da AIDS, quando você transava seu parceiro usava camisinha?</p> <p>1.Sim 2.Não 3.Às vezes 8.Não informou 9.Inaplicavel <input type="checkbox"/></p>	<p>4.32 – Quando você transa o seu parceiro tem o hábito de usar camisinha?</p> <p>1. Sim 2.Não 3. Às vezes 8.Não informou 9.Inaplicavel <input type="checkbox"/></p> <p>4.34 – Você já ouviu falar em camisinha feminina?</p> <p>1. Sim 2.Não Não (siga para a Seção 5) <input type="checkbox"/></p>
<p>4.35 – Quando você transa tem o hábito de usar camisinha feminina?</p> <p>1. Sim 2.Não 3.Às vezes 8.Não informou 9.Inaplicavel <input type="checkbox"/></p>	<p>4.36 – Antes de saber que era portadora do vírus da AIDS, quando você transava tinha o hábito de usar camisinha?</p> <p>1. Sim 2.Não 3.Às vezes 8.Não informou 9.Inaplicavel <input type="checkbox"/></p>
Seção 5 – Tabagismo	
<p>5.1 - Você fuma cigarro? <input type="checkbox"/></p> <p>2.Sim 3.Não (siga para a questão 5.4)</p>	<p>5.2 - Há quanto tempo fuma?</p> <p>1. Meses 2. Anos 3. <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/></p>
<p>5.3 - Quantos cigarros você fuma por dia? (siga para a seção 6)</p> <p style="text-align: right;"><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/></p>	<p>5.4 - Você já fumou cigarro?</p> <p>1. Sim 2. Não (siga para a seção 6) <input type="checkbox"/></p>
<p>5.5 - Por quanto tempo fumou?</p> <p>1. Meses 2. Anos <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/></p>	<p>5.6 - Há quanto tempo parou de fumar?</p> <p>1. Meses 2. Anos <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/></p>

5.7 - Quantos cigarros você fumava por dia?		<input type="text"/>	<input type="text"/>
Seção 6 – Etilismo			
6.1 - Na sua vida inteira, você já tomou pelo menos 8 drinks de qualquer tipo de bebida alcoólica (1 drink quer dizer meia cerveja , 1 copo de vinho, 1 dose de pinga, 1 dose de whisky)?			
1.Sim		<input type="checkbox"/>	
2.Não (Siga para a seção 7)			
6.2 - Já houve algum período na sua vida em que em um ano você tomou pelo menos 8 drinks contendo álcool ?			
1. Sim		<input type="checkbox"/>	
2. Não			
6.3 - Durante os últimos 30 dias você bebeu pelo menos uma dose de alguma bebida alcoólica?			
1.Sim		<input type="checkbox"/>	
2.Não			
6.5 - Nos dias em que você bebeu nos últimos 3 meses quantos drinks você geralmente tomou num único dia ? Por drink, eu quero dizer meia cerveja, um copo de vinho ou uma dose de destilado (pinga, whisky, etc.) ?			
8. Não informou		<input type="text"/>	<input type="text"/>
9. não se aplica		<input type="text"/>	<input type="text"/>
6.6 - Você está atualmente em tratamento para um problema com álcool?			
1.Sim		<input type="checkbox"/>	
2.Não			
6.7 - Você acha que o álcool interfere na sua vida sexual?			
1. Sim		<input type="checkbox"/>	
2. Não			
Seção 7 – Uso de drogas			
7.1 - Você já fez uso de drogas fumadas?		7.2 - Você já cheirou cola?	
1. Sim		1. Sim	
2. Não		2. Não	
<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	
7.3 - Você já fez uso de drogas cheiradas?		7.4 - Qual droga cheirada você fez uso?	
1. Sim		_____	
2. Não (siga para a questão 7.5)		_____	
<input type="checkbox"/>		_____	
7.5 – Você já fez uso de drogas injetáveis?		7.6 – Qual droga injetável?	
1. Sim		_____	
2. Não (siga para Seção 8)		_____	
<input type="checkbox"/>		_____	

Seção 8 – Atenção a Saúde

8.1 - Você sabe o que é exame preventivo? 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>	8.2 - Você tem o hábito de fazer o exame preventivo? <input type="checkbox"/> 1. Sim 2. Não (siga para a questão 7.4)
8.3 - Você faz com que frequência? 1. De 6 em 6 meses. <input type="checkbox"/> 2. Anualmente. 3. Quando o ginecologista manda 4. Outro.	8.4 – Uma das coisas encontradas no preventivo é o vírus do HPV. Você sabe o que é isso ? <input type="checkbox"/> 1. Sim 2. Não Se NÃO, encerra a entrevista.
8.5 – O seu preventivo acusou a presença do HPV? <input type="checkbox"/> 1. Sim 2. Não	
Entrevistador: _____	Assinatura: _____

Resultado dos exames	
1) Carga viral _____	2) CD4+ _____
3) Citologia Negativa para células neoplásicas ASCUS AGUS HPV NIC I NIC II NIC III	4) Biópsia HTEM HPV NIC I NIC II NIC III Ca invasivo
5) Contagem de Células de Langerhans _____	6) Nadir do CD4+ _____