

## Alterações na Epiderme de Pacientes com Aids Autopsiados em Uso da Terapia Antirretroviral

### Changes in the Epidermis of Autopsied AIDS Patients Using Antiretroviral Therapy

Grace Kelly Naves de Aquino Favarato<sup>1</sup>

Aline Cristina Souza da Silva<sup>1</sup>

Lívia Ferreira Oliveira<sup>2</sup>

Mara Lúcia da Fonseca Ferraz<sup>3</sup>

Rosana Rosa Miranda Correa<sup>4</sup>

Vicente de Paula Antunes Teixeira<sup>5</sup>

Camila Lourencini Cavellani<sup>3</sup>

#### RESUMO

**Objetivo:** Avaliar a influência da terapia na morfologia da epiderme de pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida - AIDS. **Metodologia:** Estudo transversal desenvolvido na Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil. Foram selecionados pacientes com AIDS de ambos os sexos, que foram agrupados de acordo com o tratamento com Terapia antirretroviral de alta eficiência: pacientes em uso de HAART (n = 14) e pacientes sem uso de HAART (n = 14). Outras informações foram coletadas do prontuário clínico. **Resultados:** A idade média dos pacientes em tratamento foi de 49,07 ± 7,89 anos e dos pacientes sem TARV foi de 55,11 ± 10,17 anos. A maioria dos pacientes na terapia utilizada pertencia ao sexo feminino, 9 (64,28%). Estes apresentaram espessamento epidérmico (150,04 x 86,09µm), número de camadas celulares (8,0 x 5,5 camadas) e densidade de células de Langerhans superiores àquelas que não utilizaram a terapia, com diferença significativa. **Conclusão:** Nossos achados sugerem que o HAART proporciona a recuperação dos constituintes da epiderme alterados pela doença, melhorando sua função como barreira chave na proteção do corpo contra microorganismos ambientais.

#### ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the influence of therapy in the morphology of the epidermis of patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome. **Methodology:** Cross-sectional study developed at the Triangulo Mineiro Federal University, Brazil. This study has been approved by Triângulo Mineiro Federal University Research Ethics Committee on protocol number 1780/2010. Patients with AIDS, of both genders were selected and arranged according to treatment with Highly Active Antiretroviral Therapy: patients in use of HAART (n = 14), and patients without use of HAART (n = 14). Other information was collected from the clinical record. **Results:** The mean age of the patients undergoing therapy was 49.07±7.89 years, and of the patients without HAART was 55.11±10.17 years. The majority of the patients using the therapy, belonged to the female gender, 9 (64.28%). These showed epidermal thickness (150.04 x 86.09µm), number of cell layers (8.0 x 5.5 layers) and density of Langerhans cells higher than those who did not use the therapy, with a significant difference. **Conclusion:** Our findings suggest that the HAART provides recovery of epidermis constituents altered by the disease, improving its function as a key barrier in protecting the body against environmental microorganisms.

#### DESCRIPTORES

Pele. Terapia Anti-retroviral Altamente Ativa. Envelhecimento. Epiderme. Morfologia.

#### DESCRIPTORS

Skin. Highly Active Antiretroviral Therapy. Aging. Epidermis. Morphology.

1. Doutoranda em Ciências da Saúde, Departamento de Patologia Geral, Universidade Federal do Triângulo Mineiro
2. Professora Adjunta, Curso de Graduação em Enfermagem, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberaba (MG), Brasil.
3. Pesquisadora e Professora do Programa de Ciências da Saúde, Departamento de Patologia Geral, Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba (MG), Brasil.
4. Professor Adjunto, Departamento de Patologia Geral, Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba (MG), Brasil.
5. Professora do Departamento de Patologia Geral da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba (MG), Brasil.

**A** Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS) foi descrita e seu agente etiológico identificado no início de 1980<sup>(1,2)</sup>. Considerada uma das doenças mais graves do final do século XX, tornou-se um dos maiores desafios para a saúde pública global<sup>(3)</sup>. Segundo as Nações Unidas, o número de novos casos foi de 1,8 milhão em 2016. O Brasil é responsável por 40% das novas infecções por HIV na América Latina<sup>(4)</sup>.

Os avanços nas tecnologias de diagnóstico e cuidado, aliados à política brasileira de acesso universal à Terapia Antirretroviral de Alta Potência (HAART) e à implementação de uma rede qualificada de serviços para acompanhamento, promoveram um aumento na sobrevivência e na qualidade de vida das pessoas que vivem com o HIV<sup>(5)</sup>.

A introdução da HAART na década de 1990 resultou na diminuição da replicação viral, no aumento do número e na melhor função dos linfócitos e na prevenção de doenças oportunistas mais graves, proporcionando uma recuperação parcial do sistema imunológico<sup>(6,7,8)</sup>.

Os pacientes infectados em estágio avançado que não são submetidos ao tratamento apresentam, frequentemente, contagem de linfócitos abaixo de 200 células/mm<sup>3</sup>, níveis elevados de RNA e manifestações clínicas indicativas de comprometimento imunológico grave e infecções oportunistas são comuns. As alterações dermatológicas são as comorbidades mais frequentes associadas à AIDS e são causadas por agressões por vírus, bactérias e fungos. Em alguns casos, as condições dermatológicas são os primeiros sinais ou o único manifestado pelo portador do HIV<sup>(9,10)</sup>.

Numerosos pacientes com retrovírose apresentam algum distúrbio dermatológico devido à uma redução significativa no número de células de Langerhans (CL), linfócitos TCD4+, macrófagos e monócitos, alterações que justificam as condições da pele<sup>(11)</sup>.

Diante do exposto, é necessário conhecer o papel da terapia nas alterações da pele causadas pela retrovírose, a fim de fornecer subsídios para a elaboração de medidas efetivas na promoção de um melhor cuidado e tratamento para esses pacientes. Portanto, este estudo avaliou a influência da HAART nas alterações epidérmicas de pacientes com AIDS.

## METODOLOGIA

Fragmentos de pele da região torácica selecionados para este estudo foram obtidos dos arquivos da Divisão de Patologia Geral. Esta região foi escolhida porque é uma área protegida dos efeitos nocivos da irradiação ultravioleta. As amostras de pele foram consideradas macroscopicamente e microscopicamente normais. Foram selecionados 28 indivíduos do sexo masculino e feminino, entre 1997-2017.

O diagnóstico de AIDS foi feito por evidências de pelo menos uma doença definiadora da AIDS apresentada pelo paciente e, pela contagem de linfócitos T CD4+ abaixo de 200 células / mm<sup>3</sup><sup>(12)</sup>. Todos os pacientes com AIDS observados neste estudo morreram por causas infecciosas durante a era pós-HAART<sup>(13)</sup>. No entanto, nem todos fizeram uso da terapia, o que pode ser explicado pelo fato de muitos deles buscarem serviços de saúde em estágio avançado da doença.

As amostras foram agrupadas de acordo com o tratamento da HAART: grupo em uso da HAART (Inibidores de Transcriptase Transversase Nucleosídeos e Inibidores de Protease) (n = 14) e sem HAART (n = 14). Casos com laudos de autópsia incompletos foram excluídos. Dados referentes à idade, o índice de massa corporal (IMC), a causa de morte e alterações macroscópicas da pele foram coletados dos laudos de autópsia, enquanto o uso da terapia antirretroviral e os valores da última carga viral foram coletados em prontuários.

O estado nutricional foi considerado de acordo com o índice de massa corporal (IMC), calculado pela relação do peso corporal em kg por estatura em m<sup>2</sup>. O IMC normal variou de 18,5 kg / m<sup>2</sup> a 24,9 kg / m<sup>2</sup> (14).

Eles foram submetidos à processamento histológico e, foram cortadas secções seriadas dos blocos de parafina disponíveis à 4µm para estudos histoquímicos. A coloração de hematoxilina-eosina (H & E) foi realizada para a análise morfométrica da espessura da epiderme.

Para análise da espessura da epiderme foi utilizado o programa Image J (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland), que foi medido traçando cinco linhas retas em diferentes partes de cada campo a ser analisado. Ao longo de cada linha, o número de núcleos de queratinócitos foi contado para determinar o número de camadas celulares na epiderme. O diâmetro médio das células foi obtido pela divisão da espessura epidérmica pelo número de núcleos de queratinócitos em cada medida (15,16).

Para avaliar o número de CLs, o anticorpo Anti-S100 (Dako®) foi usado em uma

concentração de 1/400. Para a recuperação antigênica, foi aquecido o tampão citrato de sódio e para o bloqueio de coloração inespecífica, utilizou-se albumina sérica bovina. Os anticorpos primários foram incubados por 2h e com anticorpo secundário (Novolink™ Post Primar) por 30 minutos; diaminobenzidina (DAB) foi usada como substrato-cromógeno.

As CLs positivamente coradas por imuno-histoquímica foram contadas em toda a extensão da epiderme e foram expressas como número de células / área (mm<sup>2</sup>). O número total de CLs foi determinado em cada campo. Os CLs maduras apresentaram dendritos aparentemente irregulares. Os CLs imaturas, ou LCs com morfologia alterada, exibiram formas arredondadas e mostraram a redução do número e tamanho dos processos dendríticos.

A análise estatística foi realizada utilizando o programa SigmaStat 2.03. Nos casos de distribuição normal e variâncias semelhantes, empregou-se o teste t de Student (t); caso contrário, usamos o teste de Mann-Whitney (T). Correlação entre as duas variáveis com distribuição não-normal foi determinada por meio de testes de Spearman (rS), respectivamente. Consideramos estatisticamente significantes valores em p <0,05.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro sob o número 1780/2010.

## RESULTADOS

A média de idade dos pacientes em tratamento foi de 49,07 ± 7,89 anos e os sem terapia foram de 55,11 ± 10,17 anos. A maioria dos indivíduos em terapia pertencia

ao gênero feminino, 9 (64,28%). No grupo que não aderiu ao tratamento, prevaleceu o gênero masculino, 8 (57,14%). O IMC do grupo não-terapêutico convergiu para  $19,27 \pm 3,68 \text{ kg / m}^2$  e o grupo que usou HAART foi de  $22,21 \pm 4,40 \text{ kg / m}^2$ .

A espessura da epiderme e o número de camadas (150,04  $\mu\text{m}$  e 8,0 números de camadas de queratinócitos) foram significativamente maiores no grupo usando a terapia (86,09  $\mu\text{m}$  e 5,5 número de camadas de queratinócitos).

O diâmetro celular foi maior no grupo submetido a HAART, mas sem diferença sig-

nificativa (18,11  $\mu\text{m}$  vs 13,92  $\mu\text{m}$ ) (Tabela 1, Figura 1).

Os pacientes submetidos à terapia apresentaram densidade significativamente maior de células de Langerhans (14,49 cél /  $\text{mm}^2$ ) e menor de células de Langerhans alteradas (4,98 cél /  $\text{mm}^2$ ) quando comparadas àquelas que não usaram (10,42 cél /  $\text{mm}^2$  e 6,40 cél /  $\text{mm}^2$ , respectivamente) (Tabela 1).

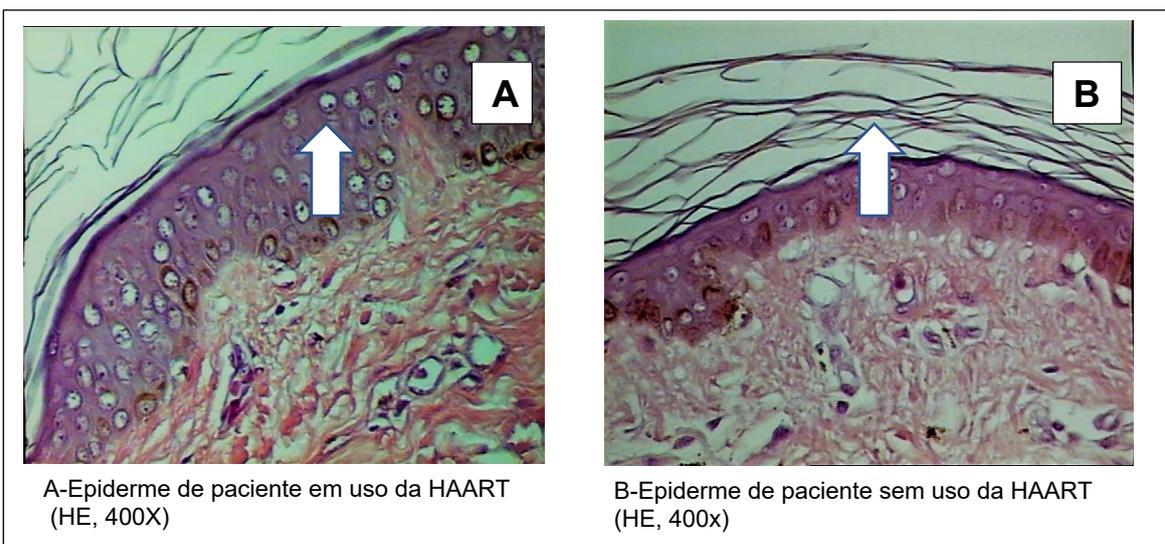
## DISCUSSÃO

O gênero feminino prevaleceu no

Tabela I - Comparação dos parâmetros morfométricos avaliados na epiderme (espessura, número de camadas celulares e diâmetro celular) de pacientes com AIDS autopsiados no HC / UFTM, em uso ou não da HAART, no período de 1994 e 2017

Grupos	Número, n (%)	Espessura Epiderme ( $\mu\text{m}$ )	No.de camadas celulares (n)	Diâmetro dos queratinócitos ( $\mu\text{m}$ )	CL totais/ $\text{mm}^2$	CLs alteradas/ $\text{mm}^2$
Med (Min – Max)						
Uso de terapia	14(50)	150.04 (51.93 - 223.22) <sup>1</sup>	8.0 (6.00 - 9.00) <sup>2</sup>	18.11 (10.47 - 25.16) <sup>3</sup>	14.49 (9.08 - 16.37)	4.98 (2.27 - 7.22)
Sem terapia	14(50)	86.09 (45.55 - 169.90) <sup>1</sup>	5.5 (4.00 - 8.00) <sup>2</sup>	13.92 (10.56 - 21.59) <sup>3</sup>	10.42 (8.69 - 14.13)	6.40 (3.95 - 9.00)
Total	28 (100)	<sup>1</sup> T = 252.000, p=0.026	<sup>2</sup> T=5.206, p=0.001	<sup>3</sup> T=5.929, p=0.08	T=3.421, p=0.002	T=3.514, p=0.002

**Figure 1** – Epiderme de pacientes com AIDS autopsiados no HC / UFTM, de 1997 à 2017



grupo que utilizou a terapia, uma vez que os homens pertencem culturalmente a um grupo de pacientes que visitam muito pouco os serviços de saúde e isso também se reflete na adesão à HAART. Portanto, é importante a escolha de um esquema terapêutico que facilite a aceitação do paciente, pois quanto maior o número de medicamentos prescritos, menores são as chances de seguimento desses indivíduos <sup>(17,18)</sup>.

As CLs totais foram significativamente maiores no grupo de pacientes que utilizaram a terapia. Alguns estudos mostraram que a CL pode sofrer alterações em epitélios e mucosas distintas durante a infecção pelo HIV, como uma diminuição acentuada no número <sup>(19)</sup>. Pode-se inferir que os pacientes que utilizam a terapia têm maior densidade de CLs totais e menor de CLs alteradas do que aqueles que não o fazem, pois o HAART promove recuperação da imunidade, fato essencial para o estágio final de maturação das células dendríticas <sup>(20)</sup>.

A espessura da epiderme, o número de camadas e o diâmetro celular foram diminuídos em pacientes que não realizaram terapia medicamentosa, visto que, de acordo com a literatura, a AIDS causa uma redução

na espessura dos diferentes epitélios <sup>(15,16)</sup>. Embora os mecanismos de infecção pelo HIV relacionados à pele ainda sejam desconhecidos, a desregulação do sistema imune dérmico tem sido fortemente relacionada ao início das dermatoses <sup>(21)</sup>. Segundo alguns autores, apesar de os queratinócitos não serem infectados pelo HIV, eles são capazes de secretar inúmeras citocinas imunomoduladoras, como a interleucina IL-1, IL-6 e o fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), aumentar a replicação do retrovírus e sua disseminação na pele <sup>(22,23)</sup>. Acredita-se que o retrovírus possa causar redução dos componentes intracelulares dos queratinócitos, levando à morte celular programada - apoptose <sup>(16,24)</sup>.

## CONCLUSÃO

Nossos achados sugerem que, além dos benefícios de reduzir a replicação viral e aumentar a contagem e a funcionalidade dos linfócitos, a terapia também proporciona uma recuperação dos constituintes alterados da epiderme, melhorando sua função como uma barreira fundamental na proteção do corpo contra microrganismos no ambiente.

## REFERENCIAS

- Gottlieb MG. et al. Envelhecimento e longevidade no Rio Grande do Sul: um perfil histórico, étnico e de morbi-mortalidade dos idosos. *Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.* 2011; 14(2):365-380.  
  
Barre-sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C, Axler-Blin C, Vezinet-Brun F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L. Isolation of a T-Lymphotropic Retrovirus from a Patient at Risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science, New Series.* 1983; v.220, n.4599: 868-871.
- Carvalho ML, Martins LFA, Galvão MTG. Sentimentos de mulheres portadoras de HIV/AIDS diante da percepção da infecção. *Nursing.* 2006; 100(8):1010-1015.
- Unaid (The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS). On the fast-track to end AIDS. Global AIDS response progress reporting. 2015. Geneva: WHO; 2015.
- Brasil. Ministério da Saúde. AIDS. *Bol Epidemiológicas.* 2006; 13(3): 36-52.

6. Lederman MM, Valdez H. Immune restoration with antiretroviral therapies: implications for clinical management. *JAMA*. 2000; 284:223-228.
7. Johnson RA. Human Immunodeficiency Virus disease in the era of HAART: a reevaluation of the cutaneous manifestations. *Current Clinical Tropical Infectious Disease*. 1999; 19:252-86.
8. Patroclo M.A de A, Medronho R de A. Evolução da contagem de células T CD4+ de portadores de AIDS em contextos socialmente desiguais. Rio de Janeiro: *Cad. Saúde Pública*. 2007; 23(8):1955-1963.
9. Supanaranond W, Desakorn V, Sitakalin C, Naing N, Chirachankul P. Cutaneous manifestations in HIV positive patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2001; 32:171-176.
10. Porras B, Costner M, Friedman-kien AE, Cockerell CJ. Update on cutaneous manifestations of HIV infection. *Med Clin North Am*. 1998; 82:1033-80.
11. Cedeno-Laurent F, Gomez-Flores M, Mendez N, Ancer Rodriguez-J, Bryant JL, Gaspari AA, et al. Novos insights sobre doenças de pele HIV-1 primary. *J Int AIDS Soc*. 2011; 14:5.
12. Center for Disease Control (CDC). Deaths among persons with AIDS through. *HIV/AIDS Surveillance Supplemental Report*. 2002; 8(1).
13. Nobre V, Braga E, Rayes A, Serufo JC, Godoy P, Nunes N, Antunes CM, Lambertucci JR. Opportunistic infections in patients with AIDS admitted to a university hospital of the Southeast of Brazil. *Rev Inst Med Trop*. 2003; 45(2).
14. Fezeu L, Minkoulou E, Balkau B, Bkengne AP, Awah P, Unwin N, Alberti GK, Mbanya JC. Association between socioeconomic status and adiposity in urban Cameroon. *Londres: Int J Epidemiol*. 2006; 35(1):105-111.
15. Rocha LP, Silva ATME, Gomes NC, Faria HA, Silva RB, Olegario JGP, Correa RRM, Teixeira VPA, Cavellani CL. The influence of gender and of AIDS on the immunity of autopsied patients' esophagus. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2011; 27:511-518.
16. Cavellani CL, Rocha LP, da Silva Rosa SC, Oliveira LF, Faria HA, Olegario JG, Correa RR, Teixeira V de P. The influence of AIDS on the morphometric and immune status of the uterine cervix of autopsied patients. *Curr HIV Res*. 2011; 19(8):606-610.
17. Blatt CR, Citadin CB, Souza FG, Mello RS, Galato D. Avaliação da adesão aos antirretrovirais em um município no Sul do Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*. 2009 mar/abr; 42(2):131-6.
18. Machin R, Couto MT, Silva GSN, Schraiber LB, Gomes R, Figueiredo WS, et al. Concepções de gênero, masculinidade e cuidados de saúde: estudo com profissionais de saúde da atenção primária. *Cienc. Saúde Colet*. 2011; 16(11):4503-4512.
19. Charton-bain MC et al. Reduced number of Langerhans cells in esophageal mucosa from AIDS patients. *Histopathology*. 1999; 34(5):399-404.
20. Rossi M, Young JW. Human dendritic cells: potent antigen-presenting cells at the crossroads of innate and adaptive immunity. *Journal of Immunology*. 2005 175: 1373-1381.
21. Galhardo MCG, Alvarenga FF, Schueler G, Perez M, Morgado MG, Ferreira H, Azevedo LM, Sampaio EP, Sarno EN. Normal skin of HIV-infected individuals contains increased numbers of dermal CD8 T cells and normal numbers of Langerhans cells. *Ribeirão Preto: Braz J Med and Biol Res*. 2004; 37(5):745753.
22. Blauvelt A, Chougnet C, Shearer GM, Katz SI. Modulation of T cell responses to recall antigens presented by Langerhans cells in HIV-discordant identical twins by anti-interleukin (IL)-10 antibodies and IL-12. *J Clin Invest*. 1996; 97(6):1550-1555.
23. Oxholm, A.; Oxholm, P.; Permin, H. Epidermal tumour necrosis factor and interleukin 6-like activities in AIDS-related Kaposi's sarcoma. *Denmark: Acta Pathol Microbiol Scand*. 1989; 97:533-538.
24. Silva RB, Rocha LP, Souza LR, Faria HÁ, Olegario JG, Soares MH, Ferraz ML, Correa RR, Teixeira VP, Cavellani CL. Morphological and immunological changes in the skin of autopsied women with AIDS. *Berlin: Virchows Archiv*. 2012; 461:449-455.

**CORRESPONDÊNCIA**

Grace Kelly Naves de Aquino Favarato  
 Disciplina de Patologia Geral, Rua Frei Paulino, 30,  
 Bairro Abadia  
 Uberaba, MG, Brasil - CEP: 38025-180  
 E-mail: gracekellynaves@hotmail.com