

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA

ALINA CAMPOS DE SOUZA
JÉSSICA SHÂMEA BORGES E SILVA

**DETECÇÃO MOLECULAR DO HHV-8 EM SANGUE VENOSO PERIFÉRICO
EM PESSOA QUE VIVE COM HIV/AIDS COM SARCOMA DE KAPOSI.**

BELÉM

2017

ALINA CAMPOS DE SOUZA

JÉSSICA SHÂMEA BORGES E SILVA

**DETECÇÃO MOLECULAR DO HHV-8 EM SANGUE VENOSO PERIFÉRICO
EM PESSOA QUE VIVE COM HIV/AIDS COM SARCOMA DE KAPOSI.**

.

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
PARA OBTENÇÃO DO GRAU EM
MEDICINA PELA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARÁ. ORIENTADORA:
PROF. Dra. CARLA ANDRÉA AVELAR
PIRES.

BELÉM

2017

ALINA CAMPOS DE SOUZA

JÉSSICA SHÂMEA BORGES E SILVA

**DETECÇÃO MOLECULAR DO HHV-8 EM SANGUE VENOSO PERIFÉRICO
EM PESSOA QUE VIVE COM HIV/AIDS COM SARCOMA DE KAPOSI.**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
PARA OBTENÇÃO DO GRAU EM
MEDICINA PELA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARÁ. ORIENTADORA:
PROF. Dra. CARLA ANDRÉA AVELAR
PIRES.**

Banca examinadora:

Orientador

Nome / Instituição

Nome / Instituição

Aprovado em: ___ / ___ / _____

Conceito: _____

AGRADECIMENTOS

Profundo agradecimento à profa. Dra. Carla Andrea Avelar Pires pela orientação, confiança e comprometimento, sempre com dedicação e a paciência que se tornou para nós um exemplo a ser seguido.

Ao Dr. e mestre Julius Monteiro pelos ensinamentos, persistência, dedicação e importantes sugestões na análise prévia.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Rosário Vallinoto pelos ensinamentos, exemplo, apoio e por permitir a utilização do Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências biológicas, contribuindo sobremaneira com a realização desde trabalho.

À Samantha Aguiar, Tuane Caroline e Keyla Sá pelo auxílio na realização das atividades laboratoriais.

Ao Prof. José Maria pelo imenso auxílio e aprendizado no âmbito da patologia.

Ao Hospital Universitário João de Barros Barreto por permitir a realização desta pesquisa. Ao Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina/Hospital Universitário João de Barros Barreto pelo apoio nas análises histopatológicas.

A todos os professores do curso, os quais foram importantes na vida acadêmica e no desenvolvimento deste trabalho.

Aos pais que com muito carinho e apoio não mediram esforços para a realização desta etapa de nossas vidas.

Aos amigos e colegas pelo incentivo e apoio constantes.

A Grande Conquista é o resultado de pequenas vitórias que passam despercebidas.

Paulo Coelho

RESUMO

Introdução: O Sarcoma de Kaposi é um tipo de câncer muito frequente em pessoas que vivem com o HIV/AIDS, e que apresenta como característica ampla variação clínica das lesões. A viremia do HHV-8 é um fator fortemente associado ao estado clínico em SK epidêmico, sugerindo um papel ativo da replicação do vírus na progressão da doença. **Objetivo:** Detecção molecular do HHV-8 em sangue venoso periférico, descrição das lesões clínicas encontradas e demonstração do perfil demográfico dos pacientes diagnosticados com sarcoma de kaposi / Aids associado. **Casuística e Método:** Foi realizada uma série de casos, descritiva, em pacientes diagnosticados no HUIBB no período de 01 de agosto de 2014 a 31 de julho de 2015. A detecção do HHV-8 no sangue periférico destes pacientes foi realizada utilizando o kit de extração de DNA genômico Biopur. O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do HUIBB, número do Parecer: 787.484/2014. **Resultados:** A amostra incluiu 18 pacientes, sendo 83,3 % do sexo masculino, com predomínio na faixa etária entre os 20 e 40 anos. 77,8 % dos indivíduos eram procedentes de Belém e região metropolitana. A profissão mais frequente foi a de vendedor (11,1 %), cabeleireiro (11,1 %) e auxiliar administrativo (11,1 %). Grande parte dos pesquisados possuíam lesões do SK localizadas nos membros inferiores, e em seguida no tórax e cavidade oral. O acometimento visceral esteve presente em 33,3 % da amostra estando o SK no estômago e traqueia como mais prevalente. A maioria dos indivíduos apresentou contagem de células CD4⁺ abaixo de 200 células/mm³. A média do Log da carga viral encontrada foi alta (4,09 log₁₀). O vírus HHV-8 foi encontrado no sangue periférico de 16 pacientes. **Conclusão:** Com esses resultados advertimos falha na detecção precoce do HIV bem como na extensão da cobertura do tratamento. A maioria dos pacientes com lesões do Sarcoma de kaposi receberam o diagnóstico de HIV há menos de um ano e receberam tratamento tardio culminando com o aparecimento de comorbidades e conferindo um prognóstico mais restrito. Sugerimos, portanto, revisão das estratégias de saúde locais, visando o diagnóstico precoce do HIV principalmente em adolescentes e adultos jovens antes do desenvolvimento da fase aids. É necessário também o aumento da cobertura de tratamento em PVHA a fim de que a quase totalidade destes indivíduos o recebam.

Palavras chave: **Sarcoma de kaposi, HIV, HHV-8**

ABSTRACT

Introduction: Kaposi's sarcoma is a very frequent type of cancer in seropositive HIV patients, and it presents a wide clinical variation of the lesions. HHV-8 viremia is a factor strongly associated with clinical status in epidemic KS, suggesting an active role of virus replication in disease progression. **Objective:** Molecular detection of HHV-8 in peripheral venous blood, description of the clinical lesions found and demonstration of the demographic profile of patients diagnosed with kaposi sarcoma/ AIDS. **Methods:** A descriptive series of cases was performed in patients diagnosed at the HUIBB from August 1, 2014 to July 31, 2015. The detection of HHV-8 in the peripheral blood of these patients was performed using the genomic DNA extraction kit Biopur. This project was approved by the Human Research Ethics Committee of HUIBB, opinion number: 787.484 / 2014. **Results:** The sample included 18 patients, 83,3% of whom were male, with a predominance in the age group between 30 and 40 years. 77,8% of the individuals were from Belém and the metropolitan region. The most frequent occupation was salesperson (11,1%), hairdresser (11,1%) and administrative assistant (11,1%). Most of the subjects had KS lesions located in the lower limbs, and then in the thorax and oral cavity. Visceral involvement was present in 3,33% of the sample, with KS in the stomach and trachea being more prevalent. Most individuals had a CD4 + cell count below 200 cells / mm³. The log mean of the viral load found was high (4,09 log₁₀). HHV-8 virus was found in the peripheral blood of 16 patients. **Conclusion:** With these results we noted a failure to detect HIV early as well as the extent of treatment coverage. Most patients with kaposi sarcoma lesions received the diagnosis of HIV less than a year ago and received late treatment culminating with the onset of comorbidities and conferring a narrower prognosis. Therefore, we suggest a review of local health strategies, aimed at the early diagnosis of HIV mainly in adolescents and young adults before the development of the aids phase. It is also necessary to increase the coverage of treatment in PLWHA so that almost all of these individuals receive it.

Key words: **Kaposi's sarcoma, HIV, HHV-8**

LISTA DE ABREVIATURAS

SK-Sarcoma de Kaposi

HIV- Vírus da imunodeficiência humana

HHV-8 - Herpes Vírus Humano -8

DNA- Ácido desoxirribonucleico

PEL -Linfoma de Efusão primaria

RNA - Ácido ribonucleico

HLA- Antígeno leucocitário humano

LANA-1- Antígeno nuclear de latência

MMPs -Metaloproteinases de Matriz

SDF-1 -fator 1 derivado do estroma

IFI - Imunofluorescência indireta

ELISA- Ensaio imuno enzimático

WB- *Western blot*

PCR - Reação em cadeia da polimerase

HHV-Herpes Vírus Humano

TARV - Terapia antirretroviral

UFPA- Universidade Federal do Pará

HUJBB – Hospital Universitário João de Barros Barreto

ORF- *Open Reading Frame*

PVHA-Pessoa que vive com HIV/Aids

SUMÁRIO

1	
INTRODUÇÃO.....	11
1.1 OBJETIVOS	Error! Bookmark not defined.
1.1.2 Objetivo específico.....	Error! Bookmark not defined.
2 REVISÃO DE LITERATURA	Error! Bookmark not defined.
2.1 EPIDEMIOLOGIA	Error! Bookmark not defined.
2.1.1 Formas de transmissão	Error! Bookmark not defined.
2.2 CLASSIFICAÇÃO	Error! Bookmark not defined.
2.3 O VÍRUS HHV-8.....	Error! Bookmark not defined.
2.4 ETIOPATOGENIA DO SARCOMA DE KAPOSÍ.....	Error! Bookmark not defined.
2.4.1 Interação HIV e HHV-8.....	Error! Bookmark not defined.
2.5 APRESENTAÇÃO CLÍNICA DO SARCOMA DE KAPOSÍ.....	Error! Bookmark not defined.
2.6 DIAGNÓSTICO DO SARCOMA DE KAPOSÍ	Error! Bookmark not defined.
2.6.1 Diagnóstico laboratorial do HHV-8.....	Error! Bookmark not defined.
2.7 DETECÇÃO VIRAL DO HHV-8 EM SANGUE PERIFÉRICO.....	Error! Bookmark not defined.
2.8 TRATAMENTO E MEDIDAS DE PREVENÇÃO E CONTROLE..	Error! Bookmark not defined.
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS	Error! Bookmark not defined.
3.1 TIPO DE ESTUDO.....	Error! Bookmark not defined.
3.2 CASUÍSTICA	Error! Bookmark not defined.
3.2.1 Amostra.....	Error! Bookmark not defined.
3.3 MÉTODO.....	Error! Bookmark not defined.
3.3.1 Dados demográficos e clínicos	Error! Bookmark not defined.
3.3.2 Dados laboratoriais	Error! Bookmark not defined.
3.3.3 Coleta e processamento de amostras	Error! Bookmark not defined.
3.3.4 Extração de DNA.....	Error! Bookmark not defined.
3.3.5 Reação em cadeia mediada pela polimerase (PCR) ..	Error! Bookmark not defined.

3.3.6 Eletroforese	Error! Bookmark not defined.
3.3.8 Procedimentos éticos	Error! Bookmark not defined.
3.3.9 Análise estatística.....	Error! Bookmark not defined.
4. RESULTADOS	Error! Bookmark not defined.
4.1. PERFIL DEMOGRÁFICO	Error! Bookmark not defined.
24.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS	Error! Bookmark not defined.
4.3 DETECÇÃO VIRAL EM SANGUE PERIFÉRICO	Error! Bookmark not defined.
5.	
DISCUSSÃO.....	38
6.CONCLUSÃO.....	Error! Bookmark not defined.
7. REFERÊNCIAS	Error! Bookmark not defined.
APÊNDICES /ANEXOS.....	Error! Bookmark not defined.
Bookmark not defined.	

1 INTRODUÇÃO

Segundo Kalil et al. (2010), em 1872 Moritz Kaposi descreveu o Sarcoma de Kaposi (SK) como uma neoplasia angioproliferativa maligna multicêntrica. Geralmente, limita-se à pele e ao tecido subcutâneo, todavia podem ocasionar comprometimento visceral. Possui quatro principais variantes epidemiológicas de acordo com o fator incitante da doença: clássico ou esporádico, endêmico (africano), epidêmico (relacionada à aids) e iatrogênico (pós-transplante) (VIEIRA; SOMERVILLE; KENNEDY, 2014).

A forma clássica ou esporádica é mais prevalente na América do Norte, em descendentes de judeus do leste europeu e de povos do Mediterrâneo. Acomete mais homens idosos. O Africano ou endêmico ocorre principalmente regiões ao Sul do Saara e acontece frequente em crianças e adultos jovens negros. A forma Iatrogênica é mais frequente em pacientes transplantados ou em uso de imunossupressores. A epidêmica está associada à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV) e é mais frequente em homens adultos jovens homossexuais e bissexuais. (KALIL et al., 2010).

A prevalência do sarcoma de kaposi no Brasil é de 3.1 % e varia em cada região conforme seus aspectos demográficos e socioeconômicos, sendo a região de maior prevalência, em 2012, a região sudeste (68%). A região norte apresentou prevalência de 2.1% no mesmo ano (SARACENI et al., 2013).

A transmissão do herpes vírus associado ao sarcoma de Kaposi pode ocorrer por meio de contato sexual em grupos de risco nos países ocidentais, no período da infância em regiões endêmicas e em grupos populacionais não homossexuais, principalmente através de contato heterossexual, do uso de drogas endovenosas, contaminação por sangue ou saliva (CORRIÇA; CALDAS, 2009).

O HHV-8 é capaz de modular as vias pró-proliferativas para sua vantagem, ao mesmo tempo que inibe as vias de sinalização pró-apoptóticas. Essas funções são realizadas por múltiplas proteínas virais atuando em conjunto. Isto resulta em sobrevivência e proliferação das células infectadas. Além disso, o vírus também modula as vias imunes inatas para permitir a sobrevivência prolongada da célula infectada após a infecção primária e durante a latência viral. (DITTMER; DAMANIA, 2013).

O sarcoma de Kaposi é caracterizado clinicamente por lesões dermatológicas avermelhadas, castanhas ou roxas na sua pigmentação. Esta malignidade pode apresentar-se por seis formas clínicas: macular, placa, nodular, linfadenopática, Infiltrativa e nodular. (WEN; DAMANIA, 2009).

Embora possa ser feito o diagnóstico presuntivo do sarcoma de Kaposi com base na história clínica e na aparência das lesões de pele, esta hipótese deve ser confirmada por biópsia das lesões, sempre que possível. (ARRUDA et al., 2014).

A replicação ativa de HHV-8 no sangue periférico está consistentemente associada ao início e progressão clínica do SK, enquanto que é indetectável em pacientes com remissão clínica estável. A viremia do HHV-8 é um fator fortemente associado ao estado clínico em SK epidêmico, sugerindo um papel ativo da replicação do vírus na progressão da doença (BROCCOLO et al., 2016).

Desta forma, torna-se importante a detecção viral do HHV-8 em sangue periférico para o seguimento clínico de indivíduos com SK associado ao HIV. A detecção deste vírus no plasma possibilita a verificação de doença ativa bem como o risco de progressão da doença.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Descrever características clínicas e demográficas de pacientes com sarcoma de Kaposi, e realizar a detecção do HHV-8 no sangue periférico dos mesmos.

1.1.2 Objetivo específico

- Demonstrar o perfil demográfico dos pacientes diagnosticados com Sarcoma de Kaposi no Hospital Universitário João de Barros Barreto;
- Descrever a frequência das formas clínicas e tipo de lesões encontradas;
- Realizar detecção do HHV-8 no sangue periférico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EPIDEMIOLOGIA

A epidemiologia do SK foi bastante complexa, porém fundamental para realização de investigação e comprovação da existência de um agente biológico causal comum, o HHV-8. Inicialmente o SK era um câncer raro, comum somente em homens judeus mais velhos, posteriormente também começou a aparecer em grupos da Europa, especialmente sicilianos e residentes do vale do rio Pó na Itália. Por volta de 1950, taxas extraordinárias de SK, apareceram no oeste e partes centrais da África, onde diferente do europeu (SK clássico), na África (SK endêmico) poderia ocorrer em crianças de ambos os sexos. Por volta de 1970, com o desenvolvimento dos tratamentos de imunossupressão para realização de transplantes ou tratamento neoplásico, surgiu uma nova forma de SK (iatrogênico), diferente das anteriores: mais agressiva, frequentemente fatal e com taxas mais equilibradas entre os gêneros. Finalmente por volta de 1980, a emergência da aids chamou atenção científica para esse tipo de câncer, responsável pela apresentação “epidêmica do SK”, que começou a aparecer em homens jovens homossexuais ou bissexuais, previamente saudáveis da população europeia e norte americana (CHANGE; MOORE, 2014).

O sarcoma de kaposi passou a ser frequente na prática clínica, após o surgimento da pandemia da Aids e do aumento da incidência de tratamentos que envolvem drogas imunossupressoras, como no caso dos transplantes de órgãos (MINHAS E WOOD 2014) . No Brasil há a prevalência do SK do tipo epidêmico associado ao HIV, a imunodeficiência provocada pela aids predisporia os pacientes a desenvolver infecções oportunistas e neoplasia incomuns como o sarcoma de kaposi. O SK é uma doença que recebe pontuação 10 na escala para cada sinal/ sintoma ou doença do critério de Rio de Janeiro/ Caracas, e seria portanto junto ao diagnóstico de HIV uma doença definidora de Aids, já que a Existência de 2 testes de triagem reagentes ou 1 confirmatório para detecção de anticorpos anti-HIV mais o Somatório de, pelo menos, 10 pontos, de acordo com essa escala de sinais/sintomas/doenças definem Aids pelo critério de Rio de Janeiro/ Caracas (BRASIL, 2016).

O SK/Aids relacionado é o segundo tumor mais frequente em pacientes com HIV em todo o mundo (Fatahzadeh et al., 2012). Por isso com o aperfeiçoamento do tratamento da aids, tem se observado uma diminuição das pessoas que vivem com HIV/Aids e conseqüentemente da incidência do sarcoma de Kaposi (ARRUDA et al., 2013).

2.1.1 Formas de transmissão

A infecção pelo vírus HHV-8 pode ocorrer na vida adulta por via sexual ou não sexual, ou ainda na infância por transmissão vertical ou horizontal. O vírus pode ser encontrado em diversos líquidos corporais, como: sangue, saliva, mucosa orofaríngea, sêmen, secreções cervico-vaginais, e de glândulas prostáticas. Pode ser transmitido, no momento do parto, através de transfusão sanguínea, relação sexual ou contato com saliva por exemplo (MINHAS; WOOD, 2014).

A forma predominante de transmissão do HHV-8 poderá variar nas diferentes áreas do mundo, dependendo da característica dessa região. Em áreas endêmicas, a infecção geralmente ocorre ainda na infância e suspeita-se da transmissão horizontal por meio da saliva como o principal meio de transmissão do vírus, uma vez que vários trabalhos demonstraram que apesar de ser possível, existe uma baixa contaminação das crianças por rota vertical (MINHAS; WOOD, 2014). Em regiões não endêmicas, como

no Brasil, a principal forma de transmissão especialmente em adultos é a sexual, havendo uma maior eficácia de transmissão entre homens que fazem sexo com homens (CHANGE; MOORE, 2014).

2.2 CLASSIFICAÇÃO

São reconhecidas quatro formas clínico-epidemiológicas do SK: clássica (homens do mediterrâneo), endêmica (África), iatrogênica (associado a imunodepressão) e associada a aids (epidêmica). O SK clássico foi o primeiro a ser descrito e se desenvolve principalmente em homens idosos, mais frequente nas regiões orientais do mediterrâneo, acometendo membros inferiores e de curso indolente. O SK africano (endêmico) é uma forma que acomete crianças e adultos jovens, e se caracteriza por ser mais agressivo (KOCHE et. al., 2010) A forma iatrogênica tem sido observada em pacientes submetidos a terapia imunossupressora (ciclosporina, ciclofosfamida, azatioprina, corticoide, etc.), inclui manifestações tegumentares e é possível o envolvimento visceral. Por último, o SK relacionado à aids (epidêmico) pode ser assintomático ou apresentar-se de forma mais agressiva com comprometimento linfonodal e de outros órgãos (CORRIÇA; CALDAS, 2009).

Aproximadamente 36,7 milhões de pessoas estão vivendo com HIV atualmente (UNAIDS 2014). Pacientes com a AIDS tem 20.000 vezes mais probabilidade de ter SK comparado a população em geral, além de ser a neoplasia mais comum entre os pacientes com AIDS (DIRWEESH et. al., 2017).

O SK tipicamente se apresenta como nódulos vasculares cutâneos e mucosos, frequentemente afetando extremidades, face, tronco, genitália e mucosa da orofaringe. O SK foi relatado em praticamente todos os sítios anatômicos e sua distribuição anatômica obteve mudanças significativas com o advento do HIV. Logo após o início da epidemia de aids, SK de cabeça e pescoço relacionado à imunodepressão avançada, tornaram-se uma manifestação muito comum e lesões viscerais também são mais comuns nessa população, comparado aos demais. Trato gastrointestinal, pulmões, fígado e baço são possíveis sítios de acometimento visceral por lesões de SK associado ao HIV (DIRWEESH et. al., 2017).

2.3 O VÍRUS HHV-8

Foi primeiramente descrito em 1994, e subsequentemente identificado nas 4 formas do sarcoma de Kaposi. Porém posteriormente foi associado também a outras doenças proliferativas, como doença de Castleman e linfoma primário. Trata-se de um vírus DNA, da ordem herpesvirales, família Herpesviridae, subfamília Gammaherpesvirinae, gênero *Rhadinovírus* e espécie *Human gammaherpesvirus 8* (ICTV, 2017). Foi declarado depois como um grupo de agente carcinogênico e mostrou um elevado número de variabilidade genética, sendo classificado em 4 subtipos: A,B,C,D (ROHNER et. al., 2014).

O HHV-8 é formado por um capsídeo icosaédrico, envolvido por um envelope (formado por bicamada lipídica de natureza celular e glicoproteínas de origem viral) e tegumento proteico entre o envelope e capsídeo. Consiste em uma molécula de DNA linear de cadeia dupla, que codifica cerca de 70-100 proteínas distintas. O HHV-8 infecta preferencialmente linfócitos B e células do endotélio vascular. Na fase lítica encontra-se na forma linear, e durante a fase de infecção latente o genoma do HHV-8 é encontrado na forma circular, episomal, havendo pouquíssima produção de proteínas (VILHENA, 2010).

A principal via de penetração do HHV-8 é a fusão direta do envelope viral à membrana celular, ou pode ainda penetrar por endocitose seguida de fusão da membrana. Após o desnudamento o DNA é então transportado para o núcleo sob a forma episomal, produzindo apenas algumas parcelas de seus genes. Em situação de imunossupressão, pode sofrer reativação produzindo as formas lineares do seu genoma, que depois de adquirirem o envelope a partir da membrana nuclear, são libertados por lise da célula infectada (VILHENA, 2010).

Foram identificadas quatro variantes (A, B, C, D) do HHV-8 conforme análise das sequências dos genes ORF-K1, e entre esses quatro subtipos ainda foram identificados 13 subgrupos: A1-5, C1-5 E D1-2 (VILHENA, 2010).

2.4 ETIOPATOGENIA DO SARCOMA DE KAPOSI

O SK é um exemplo de malignidade e inflamação crônica. Para ocorrer seu desenvolvimento faz-se necessário a infecção com o HHV-8 (MARTHELLOTA et al.). A infecção por HHV-8 é necessária, mas não suficiente para o desenvolvimento de SK. (DUBROW et al., 2017).

Inicialmente o HHV-8 infecta as células endoteliais. Estas, em consequência da ação de oncogenes virais e genes anti-apoptóticos, proliferam e promovem o escape da resposta antiviral. A expressão de Metaloproteinases de Matriz (MMPs) e moléculas proangiogênicas favorece a desestabilização de vasos e migração de células endoteliais infectadas (MARTHELLOTA et al., 2009).

Todas as células endoteliais presentes no tumor SK estão infectadas pelo HHV-8 e expressam seus genes latentes, incluindo os miRNAs virais. Existe reduzida quantidade de evidências de células endoteliais infectadas com HHV-8 em um período extenso de tempo fora das lesões ou anterior às manifestações da doença. Em sistemas de culturas de linhagens endoteliais infectadas, o HHV-8 é velozmente extraviado, a menos que ocorra a transformações adicionais nas células latentemente infectadas ou o vírus seja selecionado. Isso indica que a infecção das células de origem endotelial com HHV-8 promove seleção rigorosa nas células hospedeira, ocasionando a replicação viral, depuração viral ou persistência em uma célula transformada (MARTHELLOTA et al., 2009).

O HHV-8 apresenta dois momentos de replicação, fase lítica e latente, com papéis fundamentais na patogênese do SK. Durante essas fases ocorre a decodificação de diversos produtos gênicos que induzem proliferação, transformação (JNK / SAPK, PLC / PKC, PL3K / Akt), sinalização celular (NF- κ B), produção de citocinas (vCCL-1, vCCL-2, vCCL3, vGPCR, Kaposina B), evasão imune (KCP, K3, K5), antiapoptose (vFLIP, K1, Lana-1, VIRF-1, vIRF-3, K8) e angiogênese (VEGF, IL-6, VCCLs, Angiopietina-1) (MARTHELLOTA et al., 2009).

A fase lítica é necessária para a infecção primária de um novo hospedeiro. Após a infecção primária, o vírus persiste na fase latente com o DNA episomal que expressa apenas alguns produtos de genes incluindo v-FLIP, v-ciclina, Kaposins A, B, C e,

principalmente, antígeno nuclear latente (LANA-1) codificado por ORF-73 (DOW; CUNNINGHAM; BUCHANAN, 2013).

O ciclo biológico do HHV-8 é composto em grande parte pela forma latente. Nela são expressos uma quantidade limitada de genes virais cuja função é a manutenção e segregação fiel do genoma durante a divisão celular hospedeira, o que garante a sobrevivência celular (DITTMER; DAMANIA, 2013).

O HHV-8 pode aumentar a vida útil das células infectadas, e a infecção primária promove alguns atributos como a ativação de caminhos de sinalização pró-sobrevivência, observado rotineiramente em células transformadas. Os genes virais individuais e os microRNAs elevam a proliferação em variados sistemas experimentais e modulam a autofagia e a senescência induzida por oncogenes. Ocorre também modulação da imunidade celular (DITTMER; DAMANIA, 2013).

Entre os genes virais expressos durante a latência, a proteína LANA-1 codificada pela ORF 73 está presente nos corpos intracelulares associados a heterocromatina em quase todas as células infectadas e culturas celulares (SUMITA, 2009).

Além do seu papel no estabelecimento e manutenção da latência, o antígeno nuclear associado à latência (LANA-1) pode alterar uma infinidade de caminhos celulares para contribuir para a tumorigênese. LANA-1 pode fisicamente se associar com p53 e inibir a atividade de transcrição mediada por p53 e a apoptose. Pode também inativar o gene do retinoblastoma (Rb) e liberar o transativador E2F que induz a célula a transitar pelo ponto de controle do ciclo celular G1 / S. LANA-1 pode cooperar com o oncogene H-Ras para transformar fibroblastos primários de embriões de ratos e torná-los tumorigênicos. O LANA também mostrou aumentar a expressão genética da transcriptase reversa da telomerase humana (hTERT) e imortalizar as HUVEC (células endoteliais da veia umbilical humana) primárias e aumentar sua proliferação (WEN; DAMANIA, 2009).

Estudos mostram que a molécula pró-inflamatória cicloxigenase 2 foi intensamente regulada positivamente *in vitro* na infecção pelo HHV-8. A inibição do

COX-2 anula a expressão do principal gene latente de HHV-8 LANA-1 durante uma nova infecção das células de fibroblasto e células endoteliais, a PGE2 exógena por sua vez inverte este *down-regulation* (PAUL et al., 2010).

O HHV-8 promove a regulação negativa das respostas mediadas por Th1 (Linfócito T auxiliar tipo 1) através da supressão de IFNs (Interferons) e do *downregulation* de MHC-1 (Complexo Principal de Histocompatibilidade classe 1) para que possa impedir ativamente as respostas antivirais inatas e adaptativas. Ao mesmo tempo, o vírus faz a hiper ativação das respostas mediadas por Th2 através da secreção de citocinas pró-inflamatórias, ativação de moléculas de sinalização, bem como quimiotaxia e extravasamento de linfócitos Th2 (Linfócito T auxiliar tipo 2) no local da infecção. A oncogênese depende da infiltração e proliferação de células inflamatórias secretoras de moléculas estimuladoras (VEGF, IL-6) que favorecem o crescimento de células fusiformes e angiogênese (MARTHELLOTA et al., 2009).

2.4.1 Interação HIV e HHV-8

O HIV é um significativo co- fator na reativação do HHV-8. O DNA do HIV codifica três proteínas estruturais (matriz, capsídeo, nucleocapsídeo) e duas proteínas de envelope sendo elas a gp41 e gp 120; três enzimas (protease, transcriptase reversa e integrase), duas proteínas regulatórias denominadas Tat e Rev e quatro proteínas acessórias (Nef, Vpr, Vpu e Vif) que atuam na patogênese da reativação do HHV-8 (LUIZ, 2008).

Foi demonstrado a interação entre HIV e HHV-8 em nível molecular. A expressão do genoma do HIV é ativada por um produto do gene do HHV-8 (K1E2) que interage sinergicamente com a proteína de trans-ativação do HIV denominada Tat. Por outro lado, as proteínas Tat e Vpr do HIV aumentam a expressão intracelular do HHV-8. (LUIZ, 2008)

Em indivíduos com aids é percebido um desenvolvimento severo do SK ao comparar-se com outros estados de imunodeficiência, como os transplantados. Assim,

características associadas ao HIV podem provocar um quadro clínico pior em tais pacientes (LUIZ, 2008).

Após estudos que almejavam a melhor compreensão dos mecanismos moleculares sobre ações das proteínas derivadas do HIV, foi exposto que a proteína Tat induz aumento da expressão do bFGF (Fator básico de Crescimento de Fibroblastos) culminando com angiogênese e proliferação das células fusiformes. Foi demonstrado que camundongos em que foram injetados essa proteína apresentaram lesões “SK-like”. Assim o bFGF junto com citocinas induzem células endoteliais a expressarem receptores para a Tat, como as integrinas $\alpha 5\beta 1$ e $\alpha 5\beta 3$ (LUIZ, 2008).

Um estudo experimental evidenciou que a Tat intracelular é capaz de ativar o ciclo lítico do HHV-8. Ela age de forma diretamente na angiogênese ao interagir com receptor e contribuir na infectividade do HHV-8. Além disso, ela eleva a expressão do receptor de quimiocina CXCR-4. A ligação desse receptor de quimiocina com o fator 1 derivado do estroma (SDF-1), o qual é expresso de modo constitutivo nos capilares endoteliais cutâneos, deixaria as células circulantes infectadas pelo HHV-8 aderirem, o que favoreceria a localização na pele. Nesse sentido, é considerado que o SDF-1 tenha contribuição no surgimento de lesões cutâneas do SK (LUIZ, 2008).

2.5 APRESENTAÇÃO CLÍNICA DO SARCOMA DE KAPOSI

O SK apresenta desde formas mais brandas até formas mais agressivas com importante morbidade e mortalidade. Caracteristicamente, ocorrem lesões cutâneas disseminadas e pigmentadas, variando de milímetros a vários centímetros de tamanho, com aparência particular. Apresenta coloração que abrange do róseo ao roxo ou marrom; frequentemente está relacionado a edema, linfonodos e acometimento visceral. As lesões mais recentes podem progredir rapidamente para fase de placa à medida que as células lesionais proliferam e acometem uma porção maior da derme. Pode ocorrer evolução para tumores ulcerados (fase nodular) (MARTHELLOTA et al., 2009).

Os membros inferiores são a região mais acometida, apesar de que as lesões podem afetar qualquer região. Costumeiramente, ocorre linfedema secundário. As

lesões viscerais acometem em ordem de maior frequência o trato gastrointestinal, pulmões e gânglios linfáticos (AZULAY, 2013).

O acometimento gastrointestinal pode ocorrer na ausência de doença cutânea, podendo provocar dores abdominais, perda de peso, má absorção com diarreia ou obstrução, êmese ou sangramentos. O acometimento pulmonar é a forma com maior risco à vida e manifesta-se com dispneia, tosse ou hemoptise; ou pode surgir com achados assintomáticos na radiografia de tórax, como infiltrados nodulares, intersticiais ou alveolares, derrame pleural ou nódulos pulmonares isolados, semelhantes as lesões de infecções oportunistas (MARTHELLOTA et al., 2009). As lesões podem ocasionar dor, especialmente se provocarem edema na região que circunda a pele afetada (MALDONADO et al., 2015).

Ao realizar a comparação das lesões da forma clássica com aquelas da forma epidêmicas associadas ao HIV, é percebido que neste último grupo as lesões mostram-se de maneira disseminada, são menores, menos violáceas, pouco infiltradas e, raramente nodulares. Além disso, os locais de acometimento são mais diversificados na forma epidêmica do que nas demais formas, ocorrendo acometimento difuso da pele na maior parte dos casos MALDONADO et al., 2015).

2.6 DIAGNÓSTICO DO SARCOMA DE KAPOSI

Pode ser realizado um diagnóstico presuntivo do sarcoma de Kaposi com base na história clínica e na aparência das lesões de pele. Contudo, esta hipótese deve ser confirmada por biópsia das lesões, sempre que possível. A biópsia é especialmente importante para lesões atípicas que estão associadas a sintomas sistêmicos ou progridem rapidamente para descartar angiomatose bacilar (ARRUDA et al., 2014).

A reação em cadeia da polimerase padrão pode detectar o vírus no estado lítico e latente, mas não diferencia entre os dois. A viremia do HHV-8 detectada em soropositivos constitui fator de risco para progressão da doença (DOW; CUNNINGHAM; BUCHANAN, 2013).

Histologicamente, a lesão caracteriza-se por espaços ou canais vasculares envolvidos por células endoteliais misturados a células fusiformes. Nas lesões no estágio de mácula o tumor pode ser confundido com dermatoses inflamatórias, pois a proliferação vascular é muito pequena. Um espaço vascular neoplásico dilatado envolvendo um vaso preexistente forma o sinal do promontório. Outros achados são extravasamento de hemácias, hemorragia antiga (hemossiderina em macrófagos e infiltrado de linfócitos e plasmócitos. Lesões em placa são mais proliferativas e celulares. Apresenta maior número de células fusiformes podendo delinear feixes ou fascículos. Eventualmente, pode haver glóbulos hialinos dentro de macrófagos ou células fusiformes, além de figuras de mitose e pleomorfismo celular. A fase nodular apresenta arquitetura nodular constituída pelos elementos descritos acima. (GRAYSON; PANTANOWITZ, 2008).

2.6.1 Diagnóstico laboratorial do HHV-8

Para a realização do diagnóstico laboratorial da infecção por HHV-8 são realizadas detecção de anticorpos ou detecção de material genético para a identificação de ácidos nucleicos virais. Tais testes são importantes para o estudo da epidemiologia do vírus, para o seguimento clínico de indivíduos infectados por HIV e para transplante de órgãos, não somente para proteger doadores de órgão, mas também avaliar o risco de SK após o transplante (VILHENA, 2010).

A Imunofluorescência indireta (IFI), o ensaio imuno enzimático do tipo ELISA ou o *Western blot* (WB) são métodos de detectar anticorpos, anticorpos IgG anti-HHV-8 (VILHENA, 2010).

O ensaio de imunofluorescência preparado em linhagens celulares BCBL (Linhagens Celulares de Linfoma de Células B de Cavidade) para identificação de anticorpos contra antígeno nuclear de latência (IFA-LANA) é tido como um teste sorológico de referência para detectar infecção latente por HHV-8. Tal teste, contudo é negativo em crianças, com baixa positividade para doadores de sangue dos Estados Unidos, parte da Europa e no Brasil (SUMITA, 2009).

A soro reatividade aos antígenos latentes (LANA) depende do número de células CD4 em pacientes com aids e SK. Ela é menor em indivíduos com imunodepressão mais exacerbada (SUMITA, 2009).

A identificação de diferentes segmentos do genoma do HHV-8 em variados tipos sorológicos é possível devido a padronização de técnica de PCR. Em 1994, Chang *et al.*, padronizaram a PCR para a ORF 26. Após este feito, foram realizados vários estudos com fluidos biológicos e fragmentos de biópsia da lesão de sarcoma e Kaposi em diversas formas clínicas (MENDOZA, 2010).

A Imuno-histoquímica de pesquisa de anticorpos contra a proteína ORF 73 consiste no método histopatológico mais sensível e adequado de detecção do HHV-8 (MENDOZA, 2010).

2.7 DETECÇÃO VIRAL DO HHV-8 EM SANGUE PERIFÉRICO

A infecção pelo HHV-8 é identificada pela detecção de anticorpos ou de material genético, pois o mesmo não foi isolado em culturas celulares. Descobriu-se vários métodos de amplificação qualitativa e quantitativa do HHV-8 em diferentes modelos biológicos. As sequencias virais foram encontradas pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em várias amostras, a exemplo das lesões cutâneas. Tais sequencias podem ser detectadas no plasma e em células mononucleares de sangue periférico com alta especificidade e sensibilidade. (MACHADO et al, 2014).

O DNA no plasma é esperado, principalmente durante a fase de viremia (HESAMIZADEH et al.,2016). A replicação do HHV-8 é um forte fator de risco para o desenvolvimento de SK (SIMONETTI et al., 2015).

O DNA do HHV-8 é detectado com mais frequência e em números de cópias maiores no plasma de pacientes com SK em comparação com controles apresentando infecção assintomática por HHV-8. Uma grande proporção deste DNA de HHV-8 no plasma é encapsidada em vírions indicando uma associação entre SK, replicação e

disseminação viral sistêmica. A viremia do HHV-8 parece ter relação causal para o desenvolvimento de SK pois ela prediz SK subsequentes em estudos de pessoas assintomáticas com co-infecção por HHV-8 e HIV. A replicação lítica em reservatórios virais, provavelmente a orofaringe e os gânglios linfáticos, pode se disseminar para o sangue e provocar a infecção dos precursores das células fusiformes (GANTT; CASPER, 2011).

A detecção ou o nível plasmático do DNA do HHV-8 está fortemente associado ao estado clínico, estando sempre presente no início e durante a progressão da doença. Esta observação é ainda apoiada por análise de seguimento em 378 amostras de plasma que revelam associação significativa entre o estado clínico do SK e a presença ou nível de DNA do HHV-8 (BROCCOLO et al., 2016).

No estudo analítico e transversal realizado na Unidade de Doenças Infecciosas do Hospital Universitário de Ribeirão Preto em São Paulo, o DNA viral detectado em 12,5% das amostras de soro de pacientes no estágio II do SK e 57,6% dos pacientes no estágio IV, demonstra que a detecção de HHV-8 no soro parece estar associada ao estágio da doença em pacientes HIV positivos (MACHADO et al., 2016).

A detecção no soro pode ser muito útil para avaliação clínica dos pacientes com SK e para monitorar a progressão da doença, o que é importante para a prática clínica (MACHADO et al, 2016).

A detecção do DNA do HHV-8 nos linfócitos representa a infecção latente, enquanto o DNA detectável no soro ou no plasma é geralmente associado com doença (MACHADO et al., 2016).

2.8 TRATAMENTO E MEDIDAS DE PREVENÇÃO E CONTROLE

A introdução da terapia antirretroviral combinada (HAART) a partir de 1996 nos pacientes com infecção pelo HIV resultou em redução significativa do número de novos casos de SK epidêmico (OHE et al., 2010).

Para o tratamento do SK relacionado ao HIV é necessário a TARV, que possibilita a reconstituição imune e o controle da viremia do HIV. A introdução de TARV promoveu melhora significativa na sobrevivência global das PVHA (ULDRICK; WHITBY, 2011).

O TARV modificou significativamente a morbidade e mortalidade associada à SK e também reduziu sua incidência. A terapia antirretroviral evita o aparecimento de SK em PVHA. (SANTOS et al., 2013).

O esquema de antirretroviral para início de tratamento em PVHA usado atualmente consiste em dois inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos/nucleotídeos associado a um inibidor da integrase (TDF/ 3TC/ DTG) (BRASIL, 2017).

O tratamento local, como a vimblastina intralesional, crioterapia, laser e radiação são utilizados quando as lesões cutâneas ou mucosas estão em pouca quantidade e não houver envolvimento sistêmico. É indicado o tratamento sistêmico quando ocorre envolvimento visceral e linfedema extenso associado ao sarcoma de Kaposi, lesões cutâneas extensas e rapidamente progressivas, bem como quando não há resposta ao tratamento local (SANTOS et al., 2013).

Antraciclina, como as doxorubicina e daunorrubicina, e o paclitaxel são drogas utilizadas no tratamento sistêmico do SK. Outras drogas usadas no tratamento sistêmico desta neoplasia são o interferon alfa e hemoterapias combinadas com adriamicina, bleomicina mais vincristina ou vimblastina (SANTOS et al., 2013).

No sarcoma de Kaposi associado a transplante de órgãos sólidos, a primeira opção terapêutica, quando possível, é a redução da dose dos medicamentos imunossupressores, ou até mesmo a sua interrupção (JUNGLER, 2013).

O maior fator de risco para o aparecimento de sarcoma de Kaposi em PVHA consiste na baixa contagem de células CD4⁺, desta maneira o início precoce da TARV representa a medida mais efetiva para a prevenção do SK. (RIGHETTO et al., 2014).

É de suma importância o conhecimento a respeito do diagnóstico precoce do HIV com a finalidade de iniciar rapidamente a terapia antirretroviral, objetivando minimizar complicações advindas dos antirretrovirais e melhorar a imunidade. Isto poderá ocasionar o controle de coinfeções (RIGHETTO et al., 2014).

A OMS, em 2013, recomendou um aumento no valor de referência da contagem das células CD4⁺ para o início do tratamento do HIV de 350 para 500 células/mm³. Após isso ela publicou evidências crescentes dos benefícios clínicos do início mais precoce do tratamento. Foi demonstrado que os participantes do braço do tratamento precoce (contagem CD4 de 250 a 500) apresentaram maiores medianas de contagens de CD4 durante dois anos de seguimento; 27% menos chance de sofrer um evento clínico grave, 36% menos chance de sofrer um evento clínico definidor de aids e 51% menos chance de ser diagnosticado com tuberculose (UNAIDS, 2014).

O tratamento do HIV é um instrumento fundamental para acabar com a epidemia de aids, mas não é a única. É necessário a realização de ações para maximizar os efeitos preventivos do tratamento do HIV, fazemse necessários esforços urgentes para intensificar outras estratégias essenciais de prevenção, incluindo a eliminação da transmissão vertical, programas de disponibilização de preservativos, profilaxia antirretroviral pré-exposição, circuncisão masculina médica voluntária em países prioritários, serviços de redução de danos para pessoas que injetam drogas, bem como programas de prevenção dirigidos a outras populaçõeschave. Para implementar uma resposta abrangente para acabar com a epidemia, serão necessários esforços concertados para eliminar o estigma, a discriminação e a exclusão social (UNAIDS, 2014).

É fundamental o acesso às informações pelos meios de comunicação, escolas e intervenções educativas para a comunidade, relacionado ao conhecimento da transmissão do HIV bem como do tratamento. Intervenções e campanhas educativas para aumentar a conscientização dos portadores do vírus HIV e de suas comorbidades

com informações culturalmente adequadas, devem ser desenvolvidas, implementadas e avaliadas. Estudos futuros podem investigar a relação entre as múltiplas comorbidades e coinfeções, a conscientização destas pessoas, e sua adesão ao tratamento proposto (RIGHETTO et al., 2014).

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado na enfermaria/ambulatório de infectologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB), o qual é referência em infectologia, selecionando-se pessoas que vivem com HIV/Aids e Sarcoma de Kaposi.

3.1 TIPO DE ESTUDO

Foi realizada uma série de casos, descritivo, em pacientes diagnosticados no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB) que estiveram neste local durante o período de 01 de agosto de 2014 a 31 de julho de 2015, buscou-se descrever as formas clínicas e os aspectos demográficos, bem como foi realizada a detecção do HHV-8 no sangue periférico destes pacientes.

3.2 CASUÍSTICA

3.2.1 Amostra

Foram selecionados por conveniência dezoito pacientes diagnosticados com Sarcoma de Kaposi Aids associado, os quais foram acompanhados no período de agosto de 2014 a julho de 2015. Todos os pacientes estavam matriculados na enfermaria ou ambulatório de infectologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB).

Critérios de inclusão:

- PVHA com suspeição clínica de Sarcoma de Kaposi cutâneo;
- Pacientes que aceitaram a realização de biópsia de pele da lesão;
- Indivíduos com idade \geq 18 anos;
- Pacientes que aceitem participar da pesquisa e assinem o termo de consentimento livre e esclarecido.

Critérios de exclusão:

- Pacientes que não tiveram confirmação histopatológica de Sarcoma de Kaposi;
- Não concordância com o TCLE.

3.3 MÉTODO

Posteriormente ao consentimento em participar do estudo, os dados clínicos e laboratoriais presentes no prontuário médico foram transferidos para a ficha de protocolo para coleta de dados. Foi efetuada a biópsia da lesão sugestiva de Sarcoma de Kaposi, bem como foram coletadas amostras de sangue venoso periférico para a detecção viral.

3.3.1 Dados demográficos e clínicos

Foram investigados dados demográficos, referentes ao sexo, idade, procedência e ocupação. O diagnóstico clínico foi baseado no aspecto clínico das lesões observadas sob boa iluminação. Foi utilizada a divisão de lesões de pele e mucosas em: máculas, placas, nódulos e tumores. Os pacientes diagnosticados foram avaliados para acometimento sistêmico, rastreados por tomografia computadorizada e/ou colonoscopia, broncoscopia e endoscopia digestiva alta.

3.3.2 Dados laboratoriais

O diagnóstico de Sarcoma de Kaposi foi realizado através de exame histopatológico realizado por equipe de patologistas do Serviço de Anatomia Patológica do Instituto de Ciências da Saúde / Hospital Universitário João de Barros Barreto, segundo sua rotina.

O sangue venoso periférico foi coletado no HUIBB e foi analisado no Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA.

3.3.3 Coleta e processamento de amostras

As amostras de sangue foram obtidas por punção venosa de sangue periférico. Para este procedimento utilizou-se luvas de procedimento, seringa 10 ml, álcool a 70%, algodão, micropore, escalpe calibre 23 e garrote. O sangue extraído foi colocado em tubos de 5 ml contendo anticoagulante, a fim de se obterem plasma e parte figurada do sangue. Em seguida, foram enviadas ao Laboratório de Virologia, do Instituto de Ciências Biológicas –UFPA, onde alíquotas de plasma e de leucócitos dessas amostras foram armazenadas à -70°C até o momento do uso.

3.3.4 Extração de DNA

Para a aquisição do DNA foi utilizado o método de extração de DNA total a partir de leucócitos do sangue periférico utilizando o kit de extração de DNA genômico Biopur, de acordo com o protocolo recomendado pelo fabricante.

O processo ocorreu em diferentes etapas. Primeiramente, foi realizada a lise celular, na qual foram adicionados 200 μL de sangue periférico total, 200 μL de Tampão de Lise celular e 20 μL da enzima proteinase K em um microtubo de 2,0 mL. Esta mistura foi submetida a estresse térmico e mecânico, traduzido por aquecimento à 56°C durante 15 minutos e agitação por vórtex a cada 5 minutos, para o rompimento da membrana plasmática das células.

Após esta etapa, foram adicionados 400 μL de tampão de ligação B6, responsável pela marcação e fixação da molécula de DNA à barreira de sílica na etapa subsequente. A mistura total de 800 μL fora transferida para um tubo *spin plus* associado a um tubo de reação de 2,0 mL. As amostras foram centrifugadas à 13.000 xg durante 2 minutos. O filtrado foi descartado e o tubo *spin plus* colocado em novo tubo de reação de 2,0 mL. A próxima etapa abrangeu o processo de lavagem (500 μL de solução de lavagem I; 800 μL de solução de lavagem II) e centrifugação (13.000 xg durante 1 minuto para cada solução de lavagem e uma última centrifugação na velocidade máxima por 4 minutos para remoção do excesso de etanol).

A etapa final equivale a eluição do DNA, com adição de 200 μL de tampão de eluição fornecido pelo kit, pré-aquecido à 56°C. Ao final do processo estavam disponíveis 200 μL de DNA eluído.

Para certificação da presença de DNA nas amostras, o mesmo passou por processo de quantificação no equipamento *Qubit 2.0 Fluorometer (Invitrogen - Life Technologies, USA)*. O protocolo deste teste inclui um *mix* contendo 199 μL de tampão e 1 μL de fluoróforo para cada amostra. O *Qubit 2.0* identifica DNA com concentração entre 0,2 – 100 ng.

3.3.5 Reação em cadeia mediada pela polimerase (PCR)

A PCR foi realizada em duas etapas (*Nested PCR*) para a amplificação da região *ORF26* (233 pb). Essa amplificação teve como objetivo identificar a infecção por HHV-8 na população estudada.

As reações foram executadas em um volume total de 50 μ L, contendo 5 μ g de DNA extraído, 0,2 mM de cada dNTP, 25 pmol de cada primer, 1,5 mM de MgCl₂ e 2,5 U de *Taq* DNA polimerase (Invitrogen, New York). O par de iniciadores usados na reação de amplificação foi: (F1) 5' – AGCCGAAAGGATTCCACCAT – 3' e (R1) 5'- TCCGTGTTGTCTAC TCCAG -3' (Machado *et al.*, 2014). A reação de amplificação da primeira etapa foi realizada nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C por 1 minuto, 35 ciclos de 1 minuto à 94°C, 1 minuto à 58°C e 1 minuto à 72°C. Os 35 ciclos serão seguidos por uma extensão final de 10 minutos à 72°C.

Na segunda etapa da amplificação (*Nested PCR*) foram utilizados 1 μ L do produto da amplificação anterior, nas mesmas condições descritas acima, utilizando-se as seguintes sequências de iniciadores internos: (F2) 5'- TTCCACCATTGTGCTCGA AT - 3' e (R2) 5'- TACGTCCAGACGATATGTGC - 3' (Machado *et al.*, 2014). Novamente, em cada reação de amplificação, após a desnaturação inicial a 94°C por 1 minuto, foram efetuados 40 ciclos de 1 minuto à 94°C, 1 minuto à 60°C e 1 minuto à 72°C. Os ciclos foram seguidos por uma extensão final de 10 minutos à 72°C.

3.3.6 Eletroforese

Os produtos de PCR foram visualizados após eletroforese (100V/45 minutos) em gel de agarose a 2%, conforme o tamanho dos fragmentos amplificados, em tampão TAE 1x (TAE 50x estoque – TrisBase 60,5 M, Ácido acético 14,25 ml, EDTA (0,5 M/PH 8,0) 4,654 g e água destilada contendo 235,75 ml, mediante a utilização de transiluminador com fonte de luz ultra-violeta.

3.3.8 Procedimentos éticos

O presente projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB) em acordo com a resolução número 466/12 do CNS/MS, o qual discorre de pesquisa em seres humanos. O início se deu logo após sua aprovação (Número do Parecer: 787.484/2014; CAE: 34639414.7.0000.0017). Os pacientes foram convidados a participar do estudo mediante contato direto com o responsável pela pesquisa e aderiram a ela assinando o TCLE.

3.3.9 Análise estatística

Realizou-se análise descritiva dos dados apresentando-se frequências absolutas, relativas e medidas de tendência central (média, mediana, mínimo, máximo).

4. RESULTADOS

4.1. PERFIL DEMOGRÁFICO

A população do estudo foi composta por 18 casos de sarcoma de kaposi associado ao HIV/Aids. Houve predomínio do sexo masculino (83,3 %) na amostra estudada. Ocorreu primazia desta malignidade em dois picos de faixa etária, dos vinte aos trinta anos e dos trinta aos quarenta anos. Não houve casos em indivíduos menores de vinte anos e apenas dois apresentando idade superior a cinquenta anos. A maioria dos indivíduos (77,8 %) procedem de Belém e região metropolitana. Apenas 22,2 % deles tinham procedência do interior. A profissão mais frequente foi a de vendedor (11,1 %), cabeleireiro (11,1 %) e auxiliar administrativo (11,1 %). Outras profissões representam 66,7 % do total, como pode ser observado na tabela 1.

Tabela 1 – Características demográficas de indivíduos com diagnóstico da infecção HIV/Aids e Sarcoma de Kaposi acompanhados no Hospital Universitário João de Barros Barreto, 2015.

Características	Frequência absoluta	Frequência relativa
-----------------	---------------------	---------------------

demográficas	(n)	(%)
Sexo		
Masculino	15	83,3
Feminino	3	16,7
Faixa etária		
20 F- 30	6	33,3
30 F- 40	6	33,3
40 F- 50	4	22,2
Mais de 50 anos	2	11,1
Procedência		
Belém e região metropolitana	14	77,8
Interior do estado do Pará	4	22,2
Profissão		
Vendedor	2	11,1
Cabeleireiro	2	11,1
Auxiliar administrativo	2	11,1
Outros	12	66,7

Fonte: Protocolo de Pesquisa, 2015.

24.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS

Do total de pacientes pesquisados, 77,8 % faziam uso de terapia antirretroviral e 22,2% não faziam uso. O acometimento visceral esteve presente em 33,3 % da amostra e 38,9 % não o apresentaram. Não foi possível saber o acometimento visceral de 27,8 % dos pacientes. O sarcoma de Kaposi no estômago e traqueia foram os mais frequentes. Outros órgãos acometidos foram esôfago, intestino grosso, intestino delgado, pulmões e brônquios. Quanto à quimioterapia, 38,9 % a realizavam juntamente com a TARV. Os demais usavam apenas a TARV como tratamento. Sobre o seguimento, 72,2 % permaneceram em acompanhamento e 27,8 % evoluíram a óbito. Porém não foi possível saber a causa da morte e o seu envolvimento com sarcoma de Kaposi.

Tabela 2. Distribuição quanto ao uso de TARV, acometimento visceral e uso de quimioterapia em pacientes com HIV/AIDS e sarcoma de kaposi acompanhados no HUIBB no período de 2015.

	Frequência Absoluta (n)	Frequência relativa (%)
Uso de TARV		
Sim	14	77,8

Não	4	22,2
Acometimento visceral		
Sim	6	33,3
Não	7	38,9
Não informado	5	27,8
Órgão acometidos pelo SK		
Traqueia	3	50,0
Brônquios	2	33,3
Pulmões	1	16,7
Esôfago	2	33,3
Estômago	3	50,0
Intestino delgado	2	33,3
Intestino grosso	5	83,3
Uso de quimioterapia		
Sim	7	38,9
Não	11	61,1
Evolução para óbito		
Sim	5	27,8
Não	13	72,2

Fonte: Protocolo de Pesquisa, 2015.

Os indivíduos apresentaram tempo de diagnóstico mínimo e máximo de infecção pelo HIV de um a 60 (sessenta) meses, respectivamente. A maioria dos indivíduos (N=11) tiveram o diagnóstico há menos de um ano. Em relação ao tempo de surgimento das lesões cutâneas, houve variação mínima e máxima de dois a 84 (oitenta e quatro) meses, respectivamente; sendo o predomínio de surgimento das lesões há menos de um ano.

Tabela 3. Características clínicas dos pacientes com HIV/AIDS e sarcoma de Kaposi atendidos no HUIBB em 2015

Paciente N°	Tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV (em meses)	Tempo de lesão cutânea (em meses)	Localização/distribuição das lesões.	Aspecto clínico da lesão cutânea.	Acometimento de cavidade oral
1	5	18	Membros inferiores, tórax, dorso, membro superior.	Nódulos e placas.	Sim
2	Não informado	Não informado	Membro inferior, abdômen, tórax.	Placa infiltrada, tubérculos, lesão tumoral.	Não
3	15	10	Membro inferior.	Placas e nódulos.	Não

4	3	6	Tórax.	Placa.	Não
5	1	8	Membro inferior.	Placas e nódulos.	Não
6	11	4	Dorso, tórax, membro inferior.	Placas e nódulos.	Sim
7	15	2	Tórax, membro superior.	Máculas, placas infiltradas e nódulos.	Sim
8	Não informado	15	Cabeça, tórax e abdome.	Nódulo.	Não
9	1	3	Membro superior, tórax, face, pescoço e pelve.	Nódulos e placas infiltradas.	Não
10	4	11	Membro inferior e pés.	Nódulos e placas infiltradas.	Sim
11	1	Não informado	Glúteo, pelve, membro inferior.	Mácula, pápula e nódulo.	Não
12	Não informado	6	Membros inferiores.	Placa infiltrada e nódulo	Não
13	48	84	Tórax, abdome e pé.	Placa infiltrada e nódulo	Não
14	60	24	Mão esquerda e pés.	Placa infiltrada e nódulo.	Não
15	3	5	Membro inferior esquerdo, membro superior direito e esquerdo.	Placa infiltrada e nódulos	Não
16	4	5	Abdome.	Mácula.	Não
17	7	6	Membro inferior direito	Mácula.	Não
18	3	5	Membro superior direito, tórax, abdome, nariz e frente.	Mácula.	Não

Fonte: Protocolo de Pesquisa, 2015.

Quanto as características clínicas da lesão dermatológica, os pacientes apresentaram lesões tipo máculas, placas infiltradas, nódulos e tumores. As lesões cutâneas apareceram em diversos locais do corpo como membros inferiores, membros superiores, tórax, dorso, abdome e cavidade oral. Grande parte dos pesquisados possuíam lesões localizadas nos membros inferiores, e em seguida no tórax e cavidade oral. E poucos apresentaram lesões no pescoço, glúteos e mãos. A maioria dos indivíduos apresentou lesões tipo placas infiltradas e nódulos, seguido de somente mácula ou as três lesões concomitantes. Em relação ao acometimento da cavidade oral 4 pacientes o apresentaram.

Tabela 4. Distribuição quanto a presença de infecções oportunistas em pacientes com HIV/AIDS e sarcoma de kaposi acompanhados no HUIBB no período de 2015.

Distribuição quanto às infecções oportunistas	FA (n)	FR (%)
TB pleural	1	5,6
TB pulmonar	4	22,2
Pneumonia	3	16,6
Pneumocistose	2	11,1
Candidíase oral	2	11,1
Lesão vegetante por HPV em canal anal	1	5,6
Herpes zoster	1	5,6
Neurotoxoplasmose	2	11,1
Neurosífilis	1	5,6
Meningite	1	5,6

Fonte: Protocolo de Pesquisa, 2015.

Treze pacientes apresentaram infecção oportunistas (72,2%). As infecções oportunistas encontradas nessa população foram tuberculose pulmonar e pleural, pneumocistose, candidíase oral, HPV em canal anal, herpes zoster, neurotoxoplasmose, neurosífilis e meningite. A tuberculose pulmonar foi a infecção oportunística mais frequente seguida da pneumonia.

No que se refere a contagem de linfócitos T CD4⁺, os pacientes foram divididos em três grupos: um grupo com contagem acima de 350 cel/mm³, outro grupo com contagem entre 200 e 349 cel/mm³ e um último grupo com contagem inferior a 200 cel/mm³. O menor valor foi de 14 células/mm³, e o maior de 674 células/mm³. A maioria dos indivíduos apresentaram contagem de linfócitos de CD4⁺ inferior a 200 cel/mm³, o que é compatível com o acometimento por sarcoma de kaposi e infecções oportunistas. Sobre a contagem da carga viral, 27,8 % apresentaram contagem de <10.000 cópias e 55,5 % apresentaram contagem ≥ 10.000 cópias. A carga viral mínima encontrada foi 53 cópias de RNA /μL e máxima foi 7.468.408 cópias de RNA/μL. A

média do Log da carga viral encontrada foi alta (4,09 log₁₀). De 16,7 % dos pacientes não foi possível verificar a contagem de carga viral.

Tabela 5. Distribuição quanto a características laboratoriais em pacientes com HIV/AIDS e sarcoma de kaposi acompanhados no HUIBB no período de 2015.

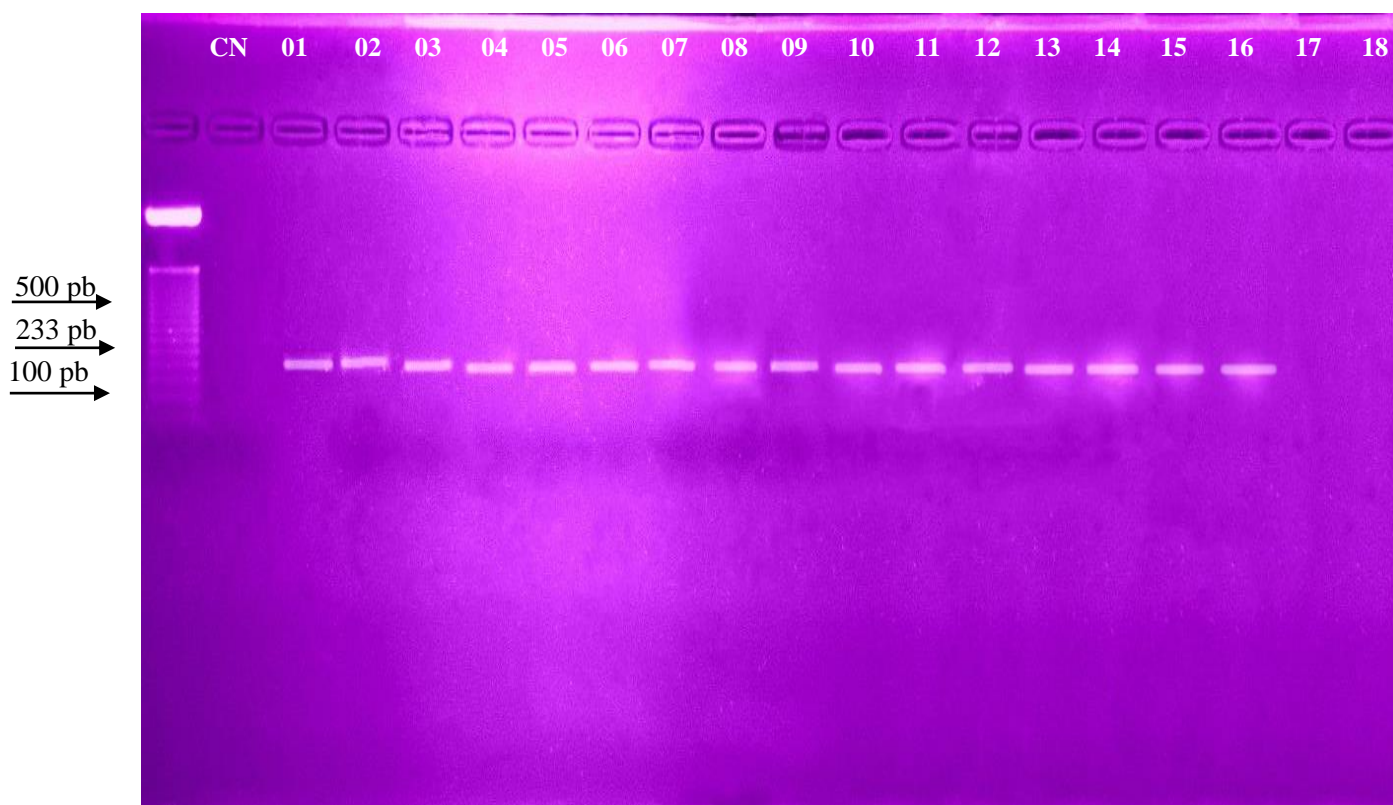
Características laboratoriais relacionadas ao HIV	Frequência absoluta (n)	Frequência relativa (%)
Contagem de linfócitos T-CD4 ⁺ (cel/mm ³)		
≥ 350	1	5,6
200 – 349	2	11,1
< 200	13	72,2
Ignorado	2	11,1
Contagem da carga viral		
< 10.000 cópias	5	27,8
≥ 10.000 cópias	10	55,5
Ignorado	3	16,7

Fonte: Protocolo de Pesquisa, 2015.

4.3 DETECÇÃO VIRAL EM SANGUE PERIFÉRICO

O vírus HHV-8 foi encontrado no sangue periférico de 16 pacientes (Figura 1). A não presença do HHV-8 no sangue periférico de dois pacientes pode ter sido devido à pouca quantidade de DNA extraído ou devido a limitações técnicas. Futuramente será extraído o vírus do tecido da lesão a fim de averiguar a presença deste agente na lesão.

Figura 1 – Detecção da região *ORF26* do HHV-8 em gel de eletroforese a partir de amostras de sangue venoso periférico de indivíduos com HIV/AIDS e Sarcoma de Kaposi acompanhados no Hospital Universitário João de Barros Barreto, 2015



5. DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou predomínio do sexo masculino (83,3 %) apoiando a literatura que afirma haver maior incidência de sarcoma de kaposi no sexo masculino, todavia ainda se obteve uma expressiva percentagem de participantes mulheres (16,7%), contra apenas (6,6%) de mulheres em um estudo conduzido em um Hospital

Universitário do Espírito Santo e 15% em um estudo no Canadá (TIUSSI et al., 2012 e DUBROW et al, 2017).

Minhas e Wood (2014) estudaram a prevalência de SK em trabalhadoras do sexo na China e concluíram que o sexo heterossexual não deveria ser a via dominante para a transmissão do sarcoma de kaposi uma vez que a porcentagem entre o grupo de estudo (10%) se mostrou igual ao risco da população feminina. O mesmo estudo propõe ainda como provável via de transmissão, a transmissão oral do HHV-8 pela saliva para contaminação uma vez que este contato frequentemente está presente tanto na prática sexual heterossexual como homossexual.

A faixa etária de maior prevalência (20-40 anos) pode corresponder a faixa etária de mudança do indivíduo sexualmente ativo infectado pelo HIV e sem tratamento, para o desenvolvimento da Síndrome da Imunodeficiência adquirida. De acordo com a OMS, o SK está entre as doenças consideradas definidoras de aids. E a progressão de portador do HIV para o diagnóstico de aids varia conforme o indivíduo, porém sem tratamento a maioria dos pacientes desenvolvem aids entre 10-15 anos após o início dos sintomas de infecção pelo HIV. A terapia antirretroviral pode deixar mais lenta a progressão da doença e prevenir a replicação viral.

Em relação a procedência e profissão, o presente estudo mostrou respectivamente a região metropolitana de Belém e outras profissões como mais frequentes. Estes dados podem ser explicados pelo fato do hospital em que foi aplicado o estudo ter localização em Belém e o fato do estado do Pará ter grande extensão territorial, o que talvez ofereça maior dificuldade dos casos mais afastados conseguirem acesso ou diagnóstico para encaminhamento a um serviço de referência na capital, como é o caso do HUIBB. Ao mesmo tempo como toda região metropolitana, Belém também oferece uma gama variada de serviços, e pela grande variedade, esse estudo não demonstrou uma relação entre o SK e a ocupação trabalhista desses pacientes.

Todos os indivíduos estavam no estágio aids da doença uma vez que apresentam o sarcoma de kaposi. O tempo mínimo e máximo de diagnóstico da infecção pelo HIV foi de 1 (um) a 60 (sessenta) meses, respectivamente. A maioria dos indivíduos (N=11) tiveram o diagnóstico há menos de um ano. O início tardio da terapia antirretroviral é uma das principais preocupações na luta contra a epidemia de aids pois ela aumenta significativamente a incidência de infecção, o risco de morte por aids (especialmente no primeiro ano de tratamento), os custos do sistema de saúde, bem como reduz a eficácia dos medicamentos antirretrovirais (GRANJEIRO et al., 2011). Na região da América Latina e do Caribe como um todo, é estimado que 70% de todas as PVHA possuam o diagnóstico deste vírus. Em Barbados, mais de 90% de todas as pessoas vivendo com HIV sabem que têm o vírus, e pelo menos 80% das pessoas vivendo com HIV no Brasil sabem que são infectadas. O aumento expressivo na proporção de pessoas vivendo com HIV que sabem que têm o vírus vai exigir avanços para além de uma metodologia passiva de testagem, a qual depende dos indivíduos reconhecerem o próprio risco e buscarem por iniciativa própria saber seu estado sorológico, muitas vezes sem educação ou apoio adequados (UNAIDS, 2014).

No presente estudo, 61 % dos pesquisados (N=11) possuíam lesões cutâneas localizadas nos membros inferiores, 50 % no tórax (N=9) e 22,2 % em cavidade oral (N=4). Semelhante, quanto ao local mais encontrado, aos estudos de Junger (2013) em que foram avaliadas as quatro formas do sarcoma de kaposi e em 56,8% dos doentes que apresentavam lesões exclusivamente cutâneas, a região mais frequentemente atingida foram os membros inferiores. Tais dados estão de acordo com a literatura, pois segundo Arruda et al. (2014) e Schwartz et al. (2008) as lesões cutâneas podem ocorrer em qualquer local, mas geralmente são concentradas nas extremidades inferiores, cabeça e pescoço. Um estudo de Sarcoma de kaposi da Sardenha encontrou esta localização da extremidade inferior evidente em 155 de 200 pacientes estudados.

Contudo o presente estudo difere da literatura quanto ao segundo e terceiros locais mais encontrados (tórax e cavidade oral), pois Tiusse et al. 2012 afirma que o local predominante foram os membros inferiores com 46% de frequência seguido da

cabeça em 20%, e Di Lorenzo et al. 2007, afirma que as lesões cutâneas aparecem mais frequentemente nos pés, pernas, face especialmente no nariz e genitais.

As lesões em cavidade oral (palato duro, palato mole e orofaringe) estiveram presentes em 22,2 % dos pacientes, valor um pouco abaixo do preconizado na literatura por Di Lorenzo et al. (2007), o qual diz que o sarcoma de Kaposi na cavidade oral ocorre em cerca de um terço dos pacientes.

Nos achados de Junger (2013), os tipos de lesões cutâneas variaram entre as três apresentações mais comuns (máculas, placas e nódulos), não tendo sido encontrada nenhuma outra forma descrita nos processos analisados, divergindo ao encontrado na presente pesquisa na qual os pacientes apresentaram lesões tipo máculas, placas infiltradas, nódulos e também tumores e a maioria dos indivíduos apresentou lesões tipo placas infiltradas e nódulos, seguido de somente mácula ou as três lesões concomitantes. Tiusse et al. (2012) também encontrou lesões cutâneas como manchas, placas e nódulos.

Neste trabalho o acometimento visceral esteve presente em 33,3 % da amostra, divergindo do estudo de Junger (2013) em relação à localização das lesões em que 10% dos doentes possuíam envolvimento visceral. É estimado que aproximadamente metade dos pacientes com aids e sarcoma kaposi podem apresentar-se com lesões viscerais (VIEIRA; SOMERVILLE; KENNEDY, 2014).

Quanto aos órgãos acometidos, o estômago e traqueia foram os locais mais frequentes concordando com a literatura a qual afirma que frequentemente o local mais envolvido é a pele seguida pelo trato pulmonar e digestivo (VIEIRA; SOMERVILLE; KENNEDY, 2014), bem como nos linfonodos, podendo acometer fígado, pulmão e coração entre outros órgãos. (BETSEM et al., 2014).

Quanto à quimioterapia, 38,9 % realizaram esta forma de tratamento associada a TARV. Os demais usavam apenas a TARV como tratamento. Este dado aproxima-se do estudo de Nguyen et al. (2008) no qual 42% dos pacientes pesquisados receberam quimioterapia, e distancia-se dos resultados de Junger (2013) e de Lima (2015) em que 29,7% e 77,3% dos doentes foram submetidos à quimioterapia respectivamente. Nas lesões cutâneas maiores, múltiplas ou acometendo vísceras, o tratamento sistêmico está indicado. Dentre estes, nos casos de doença disseminada, a quimioterapia é utilizada para atuar tanto nas lesões cutâneas como nas viscerais. (OHE et al., 2010).

Do total de pacientes pesquisados, a maior parcela (77,8 %) faziam uso de terapia antirretroviral. No estudo de Junger (2013) a grande parte dos pacientes estudados (28,8%) fizeram uso de TARV, porém com uma frequência inferior a encontrada no presente estudo. O mesmo se dá com a pesquisa de Tiusse et al. (2012), o qual encontrou que no grupo com Sarcoma de Kaposi epidêmico, a maioria dos pesquisados (20%) foram submetidos à HAART.

Sobre o seguimento, 72,2% permaneceram em acompanhamento e 27,8% evoluíram a óbito, porém não foi possível saber a causa do óbito. Este resultado é proporcionalmente diferente do encontrado por Junger (2013) em que catorze doentes deste grupo (18%) faleceram. No trabalho de Nguyen et al. (2008), houveram 15 óbitos (23%) durante o seguimento.

Nesse trabalho, treze pacientes apresentaram infecção oportunística (72,2 %) e a tuberculose pulmonar foi a infecção oportunística mais frequente seguida da pneumonia, divergindo de Tiusse et al (2012) o qual afirma que foram observadas em pacientes com SK epidêmico as seguintes doenças oportunistas: neurocriptococose (10%), tuberculose pulmonar (20%), candidíase oral / esofágica (40%), hepatite B (10%), neurotoxoplasmose (20%) e tuberculose ganglionar (10%) sendo, portando, a candidíase oral/esofágica a doença oportunista mais frequente, assim como para Lima (2015).

No que se refere a contagem de linfócitos TCD4⁺ a maioria (72,2 %) dos indivíduos apresentaram contagem dessas células inferior a 200 cel/mm³, o que é compatível com os resultados de Lima (2015) em que 77,3% dos casos investigados

possuíam contagem de células T-CD4⁺ abaixo de 200cél/mm³. Porém os dados divergem dos resultados de Tancredi et al. (2017), em que a maioria (65,3%) apresentaram quantidade entre 200 e 500 cel /mm³ e apenas e 31,5% dos indivíduos com sk-aids tiveram contagem de células CD4⁺ abaixo de 200 cel/mm³. Mosam et al. (2012) encontraram resultados maiores, dos pacientes que receberam HAART 63% tinham CD4⁺ inferior a 200 células / ml³. O SK constitui uma das primeiras doenças reconhecidas em indivíduos com o vírus da imunodeficiência humana. Pode ocorrer em qualquer fase da infecção apesar de que esta malignidade é mais prevalente em pessoas com baixa quantidade de células CD4⁺ (VIEIRA; SOMERVILLE; KENNEDY, 2014).

Sobre a contagem da carga viral, a grande parte da amostra (55,5 %) apresentaram contagem de carga viral ≥ 10.000 cópias/ml com a média do log da carga viral de 4,09 log₁₀ cópias /ml. Assemelhando-se aos achados de Nguyen et al (2008) em que a carga viral média do HIV foi de 5,0 log₁₀ cópias / ml. Existe uma relação direta entre a quantidade de HIV detectada e a rapidez com que a infecção progride. Níveis elevados de replicação do vírus e o aumento da carga viral estão associados a deterioração acelerada do sistema imune. Portanto, a carga viral é muito útil para avaliar a progressão da doença, indicar o início de terapia e para determinar a eficácia dos antirretrovirais (PEREIRA, 2015).

Quanto a detecção viral, o vírus HHV-8 foi encontrado no sangue periférico de 16 (88,9 %) dos pacientes. A não presença do HHV-8 no sangue periférico de dois pacientes pode ter sido devido à pouca quantidade de DNA extraído ou devido a limitações técnicas. Machado et al. (2014) também detectou grande quantidade de DNA do HHV-8 (95,4%) em amostras de sangue periférico de pacientes HIV positivos com SK. Hesamizadeh et al. (2016) encontrou menor quantidade, pois foram positivos para o DNA de KSHV no plasma 67% da amostra. No estudo de Broccolo et al. (2016) os valores positivos para o DNA do HHV-8 ou um número > 26 cópias / ml foram fortemente associados à doença SK ativa, enquanto que nem a detecção e a carga de RNA do HIV-1 nem a contagem de células T CD4⁺ foram significativamente associadas ao estado clínico do SK. Além disso, os valores positivos do DNA de HHV-8 mostraram-se mais preditivos de condições clínicas desfavoráveis, enquanto que os valores negativos de DNA HHV-8 foram associados a um estado clínico favorável (BROCCOLO et al., 2016).

6.CONCLUSÃO

Houve predomínio do sexo masculino, idade entre 20 e 40 anos, procedentes da região metropolitana de Belém. Entre as profissões houve prevaecimento da de vendedor, cabeleireiro e auxiliar administrativo.

As lesões encontradas foram do tipo: máculas, placas infiltradas, nódulos e tubérculos, havendo predominância do tipo placas em membros inferiores. Houve acometimento visceral em menos da metade dos casos, acometendo trato gastrointestinal e respiratório predominantemente. A maioria do grupo realizou tratamento exclusivamente com TARV, e outros sete realizaram quimioterapia adjuvante a TARV. Cinco indivíduos morreram durante o tratamento.

A maioria dos pacientes faziam uso de TARV, obtiveram diagnóstico de HIV há menos de um ano e apresentavam contagem de CD4⁺ abaixo de 200 células. A média do log da carga viral encontrada foi alta (4,09 log₁₀). A tuberculose pulmonar foi a infecção oportunistica mais frequente seguida da pneumonia. A detecção da região ORF26 do HHV-8 foi encontrada no sangue periférico de dezesseis dos dezoito participantes do estudo.

Com esses resultados advertimos falha na detecção precoce do HIV bem como na extensão da cobertura do tratamento. A maioria dos pacientes com lesões do Sarcoma de kaposi receberam o diagnóstico de HIV há menos de um ano e receberam tratamento tardio culminando com o aparecimento de comorbidades e conferindo um prognóstico mais restrito. Sugerimos, portanto, revisão das estratégias de saúde locais, visando o diagnóstico precoce do HIV principalmente em adolescentes e adultos jovens antes do desenvolvimento da fase Aids. Faz necessário também o aumento da cobertura de tratamento em PVHA a fim de que a quase totalidade destes indivíduos o recebam

7. REFERÊNCIAS

ARRUDA, Érico et al. Consensus of the Brazilian Society of Infectious Diseases and Brazilian Society of Clinical Oncology on the management and treatment of Kaposi's sarcoma. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 315-326, 2014.

AZULAY, Rubem David e AZULAY, David Rubem. Dermatologia. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

BETSEM, Edouard et al. Epidemiology and genetic variability of HHV-8/KSHV in Pygmy and Bantu populations in Cameroon. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 5, p. e2851, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. **NOTA INFORMATIVA N° 007/2017-DDAHV/SVS/MS**.Brasília-DF,2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde** : [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 1. ed. atual. – Brasília : Ministério da Saúde, 2016.

BROCCOLO, Francesco et al. HHV-8 DNA replication correlates with the clinical status in AIDS-related Kaposi's sarcoma. **Journal of Clinical Virology**, v. 78, p. 47-52, 2016.

CARVALHO, Kátia Silene Sousa et al. PCR detection of multiple human herpesvirus DNA in saliva from HIV-infected individuals in Teresina, State of Piauí, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 6, p. 620-623, 2010.CHANG, Yuan; MOORE, Patrick. Twenty years of KSHV. **Viruses**, v. 6, n. 11, p. 4258-4264, 2014.

CORRIÇA, Talita; CALDAS, Maria Lucia R. Sarcoma de Kaposi em pacientes com Aids: estudo de 20 anos de necropsias em hospital universitário. **DST j. bras. doenças sex. transm**, v. 21, n. 1, 2009.

DI LORENZO, Giuseppe et al. Management of AIDS-related Kaposi's sarcoma. **The lancet oncology**, v. 8, n. 2, p. 167-176, 2007.

DITTMER, Dirk P.; DAMANIA, Blossom. Kaposi sarcoma associated herpesvirus pathogenesis (KSHV)—an update. **Current opinion in virology**, v. 3, n. 3, p. 238-244, 2013.

DOW, Dorothy E.; CUNNINGHAM, Coleen K.; BUCHANAN, Ann M. A review of human herpesvirus 8, the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, in the pediatric population. **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, v. 3, n. 1, p. 66-76, 2013.

DUBROW, Robert et al. Association of CD4+ T-cell Count, HIV-1 RNA Viral Load, and Antiretroviral Therapy With Kaposi Sarcoma Risk Among HIV-infected Persons in the United States and Canada. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 75, n. 4, p. 382-390, 2017.2011.

FATAHZADEH, Mahnaz. Kaposi sarcoma: review and medical management update. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology**, v. 113, n. 1, p. 2-16, 2012.

GANTT, Soren; CASPER, Corey. Human herpesvirus 8-associated neoplasms: the roles of viral replication and antiviral treatment. **Current opinion in infectious diseases**, v. 24, n. 4, p. 295.

GRANGEIRO, Alexandre et al. Late entry into HIV care: estimated impact on AIDS mortality rates in Brazil, 2003–2006. **PLoS One**, v. 6, n. 1, p. e14585, 2011.

GRAYSON, Wayne; PANTANOWITZ, Liron. Histological variants of cutaneous Kaposi sarcoma. **Diagnostic pathology**, v. 3, n. 1, p. 31, 2008.

HESAMIZADEH, Khashayar et al. Molecular epidemiology of Kaposi's sarcoma-associated herpes virus, and risk factors in HIV-infected patients in Tehran, 2014. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 18, n. 11, 2016.

HESAMIZADEH, Khashayar et al. Molecular epidemiology of Kaposi's sarcoma-associated herpes virus, and risk factors in HIV-infected patients in Tehran, 2014. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 18, n. 11, 2016.

OMS. 2017. Organização Mundial de Saúde [Online]. **HIV/AIDS**. Disponível em: <http://www.who.int/features/qa/71/en/>. Acesso em agosto 2017.

ICTV. 2016. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) [Online]. **Taxinonomy list**. Disponível em: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>. Acesso em agosto 2017.

JUNGER, Juliana Miglio Bensabat. **Estudo dos doentes com sarcoma de Kaposi após a introdução da terapêutica HAART nos últimos 19 anos no Hospital de Santa Maria-Lisboa (1994-2012)**. 2013. Tese de Doutorado.

KALIL, Jorge Agle et al. Sarcoma de Kaposi em membros inferiores: relato de caso. **Jornal Vascular Brasileiro**, 2010.

KOCHE, Bruna et al. Sarcoma de Kaposi associado a corticoterapia sistêmica. **Rev AMRIGS**, v. 54, n. 2, p. 202-5, 2010.

LIMA, Catarina Tenório de. **Sarcoma de Kaposi: características clínico-laboratoriais estadiamento e desfecho em pacientes com aids atendidos no centro de referência de RECIFE/PE no período de 2004 a 2014**. 2015. 107f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2015.

LUIZ, Fernanda Guedes. **Avaliação da resposta tecidual in situ do fenótipo, da expressão de HHV-8/LANA e de citocinas em lesões cutâneas de sarcoma de Kaposi clássico e sarcoma de Kaposi associado à AIDS na era pré e pós-terapia anti-retroviral combinada**. 2008. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MACHADO, Paula Renata Lima et al. Human herpesvirus 8 (HHV-8) detected by nested polymerase chain reaction (PCR) in HIV patients with or without Kaposi's sarcoma. An analytic cross-sectional study. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 134, n. 3, p. 187-192, 2016.

MALDONADO, Gabriel de C. et al. Estudo clínico de sarcoma de Kaposi em pacientes com HIV. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 14, 2015.

MARTELLOTTA, Ferdinando et al. AIDS-related Kaposi's sarcoma: state of the art and therapeutic strategies. **Current HIV research**, v. 7, n. 6, p. 634-638, 2009.

MARTINHO, A. Herpesvirus humanos.[monografia]. **Évora (Portugal): Universidade de Évora**, 2003.

MENDOZA, Tania Regina Tozetto. **Análise da variabilidade genética do Herpesvirus 8 humano (HHV-8) em indivíduos infectados por HIV com e sem sarcoma de Kaposi**. 2013. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MINHAS, Veenu; WOOD, Charles. Epidemiology and transmission of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. **Viruses**, v. 6, n. 11, p. 4178-4194, 2014., v. 6, n. 11, p. 4178-4194, 2014.

NGUYEN, Huong Q. et al. Persistent Kaposi sarcoma in the era of HAART: characterizing the predictors of clinical response. **AIDS (London, England)**, v. 22, n. 8, p. 937, 2008.

OHE, Eugênia Maria Damásio N. et al. Sarcoma de Kaposi clássico fatal. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 2010.

PAUL, Arun George et al. Piracy of Prostaglandin E2/EP Receptor–Mediated Signaling by Kaposi's Sarcoma-Associated Herpes Virus (HHV-8) for Latency Gene Expression: Strategy of a Successful Pathogen. **Cancer research**, v. 70, n. 9, p. 3697-3708, 2010.

PEREIRA, Patricia Fonseca; CUZZI, Tullia; GALHARDO, Maria Clara Gutierrez. Immunohistochemical detection of the latent nuclear antigen-1 of the human herpesvirus type 8 to differentiate cutaneous epidemic Kaposi sarcoma and its histological simulators. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 88, n. 2, p. 243-246, 2013.

RIGHETTO, Rosângela Casas et al. Comorbidades e coinfeções em pessoas vivendo com HIV/Aids. **Northeast Network Nursing Journal**, v. 15, n. 6, 2015.

ROHNER, Eliane et al. Incidence rate of Kaposi sarcoma in HIV-infected patients on antiretroviral therapy in Southern Africa: a prospective multi-cohort study. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 67, n. 5, p. 547, 2014.

SANTOS, Mônica et al. Lymphangiectatic Kaposi's sarcoma in a patient with AIDS. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 88, n. 2, p. 276-278, 2013.

SARACENI, Valéria et al. AIDS-related Kaposi's sarcoma in Brazil: trends and geopolitical distribution. **International journal of dermatology**, v. 52, n. 12, p. 1525-1529, 2013.

SCHWARTZ, Robert A. et al. Kaposi sarcoma: a continuing conundrum. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 59, n. 2, p. 179-206, 2008.

TIUSSI, Ricardo Montibeler et al. Kaposi's sarcoma: clinical and pathological aspects in patients seen at the Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes-Vitória-Espírito Santo-Brazil. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 87, n. 2, p. 220-227, 2012.

ULDRICK, Thomas S.; WHITBY, Denise. Update on KSHV epidemiology, Kaposi Sarcoma pathogenesis, and treatment of Kaposi Sarcoma. **Cancer letters**, v. 305, n. 2, p. 150-162, 2011.

UNAIDS. Estatísticas. Disponível em: <http://unaid.org.br/estatisticas/>. Acesso em fev 2017.

UNAIDS 90-90-90. **Uma Meta Ambiciosa de Tratamento Para contribuir para o fim da epidemia de Aids**. Genebra, 2014.

VIEIRA F, SOMERVILLE J, KENNEDY KL (Oral Kaposi's Sarcoma In HIV Positive Patients. A Case Report and A Review of Literature. **J AIDS Clin Res** 5:349, 2014.

VILHENA, Regiane Siqueira de et al. **Epidemiologia molecular dos Vírus linfotrópico de células T humanas 1 e 2 (HTLV-1 e HTLV-2) e do Herpesvírus humano 8 (HHV-8) co-infectando portadores do Vírus da imunodeficiência humana 1 (HIV-1)**. 2010. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará.

WEN, Kwun Wah; DAMANIA, Blossom. Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (KSHV): molecular biology and oncogenesis. **Cancer letters**, v. 289, n. 2, p. 140-150, 2010.

APENDICES /ANEXOS

APÊNDICE A – PROTOCOLO PARA COLETA DE DADOS

DETECÇÃO MOLECULAR DO HHV-8 EM SANGUE VENOSO PERIFÉRICO EM PVHA COM SARCOMA DE KAPOSI CUTÂNEO.

DATA DA INVESTIGAÇÃO ___/___/___

NÚMERO DO PRONTUÁRIO _____

NOME _____ SEXO: F/M DNAS ___/___/___

IDADE _____

LOCAL DE NASCIMENTO _____ ESTADO _____

PROFISSÃO _____ E. CIVIL _____ PROCEDÊNCIA _____

ENDEREÇO _____

TELEFONE _____

ANTECEDENTES PESSOAIS

TEMPO DE INFECÇÃO PELO HIV (ANOS) _____ TARV: SIM/NÃO
 TARV (ESQUEMA ATUAL E ANTERIORES) _____
 TEMPO DE TARV (ANOS) _____ ABANDONO DE TRATAMENTO: SIM/NÃO
 CD4 ATUAL _____ DATA: ___/___/___
 CD4 MAIS BAIXO _____ DATA: ___/___/___
 DOENÇAS OPORTUNÍSTICAS ASSOCIADAS _____
 OUTRAS COMORBIDADES: _____

ASPECTOS CLÍNICOS
 LOCAL DAS LESÕES CUTÂNEAS E TAMANHO (IDENTIFICAR ÁREAS DO CORPO)

ASPECTO CLÍNICO: () MÁCULA () PLACA () TUMOR
 TEMPO DE SURGIMENTO DAS LESÕES _____
 ACOMETIMENTO MUCOSO: SIM/NÃO
 ACOMETIMENTO VISCERAL: SIM/NÃO
 ÓRGÃOS ACOMETIDOS: () ESÔFAGO () ESTÔMAGO () BRÔNQUIOS () PULMÕES () INTESTINO DELGADO
 () INTESTINO GROSSO () FÍGADO () OUTROS

TERAPEUTICA
 INDICAÇÃO DE QUIMIOTERAPIA: SIM/NÃO
 MEDICAÇÕES E TEMPO: _____
 CICLOS: _____
 INTERRUPÇÃO DA QUIMIOTERAPIA: SIM/NÃO RAZÃO:

REMISSÃO DA DOENÇA: SIM/NÃO
 RECORRÊNCIA DO QUADRO: SIM/NÃO
 EVOLUÇÃO A ÓBITO: SIM/NÃO

HISTOPATOLOGIA
 EPIDERME- ASPECTOSMICROSCÓPICOS

<input type="checkbox"/>	ACANTOSE REGULAR	<input type="checkbox"/>	PAPILOMATOSE
<input type="checkbox"/>	HIPERPLASIA IRREGULAR	<input type="checkbox"/>	ESPONGIOSE
<input type="checkbox"/>	HIPERPLASIA REGULAR	<input type="checkbox"/>	EXOCITOSE
<input type="checkbox"/>	HIPERPLASIA PSEUDOEPITELIOMATOSA	<input type="checkbox"/>	PARACERATOSE
<input type="checkbox"/>	SEM ALTERAÇÕES	<input type="checkbox"/>	

DERME

DISTRIBUIÇÃO DA NEOPLASIA
 () LOCALIZADA
 () DIFUSA
 () NODULAR
 NÍVEL DA NEOPLASIA
 () DERME PAPILAR
 () DERME RETICULAR
 () AMBAS

CÉLULAS/ALTERAÇÕES CONSTITUINTES DA NEOPLASIA

<input type="checkbox"/>	CÉLULAS ENDOTELIAIS ATÍPICAS	<input type="checkbox"/>	HEMÁCIAS DENTRO DOS VASOS
<input type="checkbox"/>	HISTIÓCITOS	<input type="checkbox"/>	HEMÁCIAS EXTRAVASADAS
<input type="checkbox"/>	CÉLULAS EPITELIÓIDES	<input type="checkbox"/>	LINFÓCITO
<input type="checkbox"/>	CÉLULAS FUSIFORMES	<input type="checkbox"/>	NEUTRÓFILO
<input type="checkbox"/>	FIGURAS DE MITOSE	<input type="checkbox"/>	EOSINÓFILO
<input type="checkbox"/>	DEPÓSITO DE HEMOSSIDERINA	<input type="checkbox"/>	PLASMÓCITO
<input type="checkbox"/>	SINAL DO PROMONTÓRIO	<input type="checkbox"/>	VASOS ENOVELADOS
<input type="checkbox"/>	INCLUSOES HIALINAS	<input type="checkbox"/>	OUTROS: (ESPECIFICAR)

PROLIFERAÇÃO DE CAPILARES ANÔMALOS NA DERME
 () AUSENTE () LEVE () MODERADO () ACENTUADA
DESMOPLASIA
 () PRESENTE () AUSENTE

APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**Prezado (a) Senhor (a):**

O (A) Senhor (a) foi convidado a participar da pesquisa intitulada **“SARCOMA DE KAPOSI EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS: abordagem molecular, clínica, histopatológica e terapêutica.”**, que está sendo realizado pelo médico-residente Julius Caesar Mendes Soares Monteiro do Programa de Residência Médica em Infectologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto sob orientação da Prof^ª. Dr^ª. Carla Andréa Avelar Pires.

Esclarecimento da pesquisa

O (A) Senhor (a) está com uma doença na sua pele chamada de Sarcoma de Kaposi, que é causada por um vírus chamado *Herpesvírus humano tipo 8* (HHV-8). Até o momento existem tratamentos para a sua doença que irão depender do quão avançada a mesma está no seu organismo e por esta razão você está sendo convidado a participar do estudo **“SARCOMA DE KAPOSI EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS: abordagem molecular, clínica, histopatológica e terapêutica.”**

Com este estudo, se busca avaliar se há alguma relação entre a genética do paciente com a resposta à infecção pelo vírus, e a as características clínicas, demográfica, comportamento da lesão a nível tecidual e resposta ao tratamento instituído.

Para realização do estudo é necessária sua autorização e concordância para realização dos seguintes procedimentos:

Caso você já tenha o diagnóstico prévio histopatológico de Sarcoma de Kaposi, será realizada a coleta de dados em seu prontuário com um questionário, após concordância.

Caso você ainda não tenha o diagnóstico histopatológico de Sarcoma de Kaposi, será realizada a coleta de sangue para realização do exame Reação em Cadeia da Polimerase para detecção do HHV-8 e outros polimorfismos genéticos em genes da imunidade inata e humoral (no Laboratório de Virologia da Universidade Federal do Pará, sediada em Belém), realização de biópsia de pele sob anestesia em sua lesão (uma para o diagnóstico de Sarcoma de Kaposi e outra para detecção do HHV-8 na pele), e autorização para coleta de dados em seu prontuário com um questionário.

Destacamos que a realização deste estudo não levará em riscos ou prejuízos físicos e morais para você, já que as informações relatadas e identificações pessoais são sigilosas e serão de uso exclusivamente científico. Ressaltamos que em caso de desconforto ou acidente durante a coleta de sangue, você será atendido e medicado, se necessário, no mesmo local.

Informamos também, que o resultado histopatológico da biópsia de pele, assim que estiver pronto será disponibilizado conforme o andamento normal do Serviço de Anatomia Patológica do ICS/HUJBB para que você possa consultar o médico assistente, sem prejuízo para o senhor(a).

Qualquer pergunta, dúvida sobre a pesquisa e seu andamento pode ser direcionada ao pesquisadores deste estudo. Queremos deixar claro que sua participação é de seu livre-arbítrio, não havendo pagamento pela mesma, podendo se recusar a responder quaisquer perguntas do formulário. A aceitação ou não de participar, não acarretará em nenhum prejuízo de qualquer aspecto em relação ao seu atendimento ou tratamento. Mais uma vez, o (a) senhor (a) tem liberdade de abandonar a pesquisa a qualquer momento, não sendo de forma alguma prejudicado por isso.

Informamos que o(a) Senhor(a) tem a garantia de acesso, em qualquer etapa do estudo, sobre qualquer esclarecimento de eventuais dúvidas; e caso, sinta necessidade, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do **Hospital Universitário João de Barros Barreto**.

Após a conclusão da coleta de dados, os resultados dos exames serão entregues ao senhor (a), o sangue e o fragmento de pele coletado somente será usado para este estudo, e com os outros dados serão analisados e será elaborado um trabalho pelos autores da pesquisa, ao qual será feita a divulgação para o meio acadêmico e científico.

Este termo está sendo elaborado em duas vias, sendo que uma via ficará com o Senhor e outra arquivada com os pesquisadores responsáveis. Na página seguinte está o consentimento livre e esclarecido para ser assinado caso não tenha ficado qualquer dúvida.

Em qualquer momento, você poderá obter esclarecimentos sobre todos os procedimentos utilizados na pesquisa e nas formas de divulgação dos resultados. Para isso, você pode entrar em contato com o Dr. Julius Caesar Mendes Soares Monteiro (CRM-PA 11203), diretamente no Serviço de Infectologia do Hospital Universitário João de Barros Barreto, localizado na Rua dos Mundurucus, 4487, Bairro do Guamá, CEP 66073-000, Belém - PA, ou pelos telefones, (91) 8175 5597.


CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO:

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa e que me sinto perfeitamente esclarecido sobre o conteúdo da mesma, ficando claros para mim quais são os propósitos da pesquisa, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Declaro ainda que por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com todas as informações, podendo retirar meu consentimento a qualquer momento sem necessidade de justificar o motivo da desistência, antes ou durante o mesmo, sem penalidades.

Belém _____ de _____ de _____

Assinatura do entrevistado

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o consentimento livre e esclarecido deste profissional para participação no presente estudo.


Dr. Julius Caesar Mendes Soares Monteiro
Pesquisador responsável
Médico – CRM-PA: 11203

APÊNCIDE C – TRABALHO NO FORMATO DE ARTIGO

DETECCÃO MOLECULAR DO HHV-8 EM SANGUE VENOSO PERIFÉRICO EM PVHA COM SARCOMA DE KAPOSI CUTÂNEO.

Alina Campos de Souza

Universidade Federal do Pará,
Pará Brasil.

Carla Andreia Avelar Pires

Universidade Federal do Pará,
Pará Brasil.

Jéssica Shâmea Borges e Silva

Universidade Federal do Pará,
Pará Brasil.

RESUMO

A pesquisa objetivou traçar o perfil demográfico e outras características dos pacientes portadores de Sarcoma de Kaposi em pessoas convivendo com HIV, bem como detectar a presença do vírus HHV-8 no sangue periférico desses pacientes, pois a viremia do HHV-8 é um fator fortemente associado ao estado clínico em SK epidêmico, sugerindo um papel ativo da replicação do vírus na progressão da doença. Foi realizada uma série de casos, descritiva, em pacientes diagnosticados no HUIBB no período de 01 de agosto de 2014 a 31 de julho de 2015, buscou-se descrever as formas clínicas e os aspectos demográficos, bem como foi realizada a detecção do HHV-8 no sangue periférico destes pacientes utilizando o kit de extração de DNA genômico Biopur. Foram coletados dados relacionados ao perfil do paciente, tais como sexo, local de origem e dados relacionados ao HIV e ao sarcoma de kaposi. Houve predomínio do sexo masculino (83%) e da faixa etária entre os 20 e 40 anos. Grande parte dos pesquisados possuíam lesões cutâneas do SK localizadas nos membros inferiores, seguida no tórax e cavidade oral. A região *ORF26* do HHV-8 foi encontrada em 16 dos 18 participantes do estudo. A maioria dos pacientes com lesões do Sarcoma de kaposi receberam o diagnóstico de HIV há menos de um ano e receberam tratamento tardio, o que certamente contribuiu para o perfil de doença clínica avançada encontrado nos pacientes desse estudo.

Palavras chave: Sarcoma de kaposi, HIV, HHV-8.

INTRODUÇÃO

Em 1872, Moritz Kaposi descreveu o Sarcoma de Kaposi (SK) como uma neoplasia angioproliferativa maligna multicêntrica. Geralmente, limita-se à pele e ao tecido subcutâneo, todavia podem ocasionar comprometimento visceral. Possui quatro principais variantes epidemiológicas de acordo com o fator incitante da doença: clássico ou esporádico, endêmico (africano), epidêmico (relacionada à AIDS) e iatrogênico (pós-transplante)¹.

O sarcoma de Kaposi é caracterizado clinicamente por lesões dermatológicas avermelhadas, castanhas ou roxas na sua pigmentação. Esta malignidade pode apresentar-se por seis formas clínicas: macular, placa, nodular, linfadenopático, Infiltrativo e nodular.²

A replicação ativa de HHV-8 no sangue periférico está consistentemente associada ao início e progressão clínica do SK, enquanto que é indetectável em pacientes com

remissão clínica estável. A viremia do HHV-8 é um fator fortemente associado ao estado clínico em SK epidêmico, sugerindo um papel ativo da replicação do vírus na progressão da doença.³

Desta forma, torna-se importante a detecção viral do HHV-8 em sangue periférico para o seguimento clínico de indivíduos com SK associado ao HIV. A detecção deste vírus no plasma possibilita a verificação de doença ativa bem como o risco de progressão da doença e o estado clínico dos indivíduos.

O objetivo desse estudo foi a Detecção molecular do HHV-8 em sangue venoso periférico, descrição das lesões clínicas encontradas e demonstração do perfil demográfico dos pacientes diagnosticados com sarcoma de kaposi AIDS associado no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUIBB) no período de 01 de agosto de 2014 a 31 de julho de 2015.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizada uma série de casos, descritivo, em pacientes diagnosticados no HUIBB que estiveram neste local durante o período de 01 de agosto de 2014 a 31 de julho de 2015, buscou-se descrever as formas clínicas e os aspectos demográficos, bem como foi realizada a detecção do HHV-8 no sangue periférico destes pacientes.

□ Critérios de inclusão:

- PVHA com suspeição clínica de SK cutâneo;
- Pacientes que aceitaram a realização de biópsia de pele da lesão;
- Indivíduos com idade \geq 18 anos;
- Pacientes que aceitem participar da pesquisa e assinem o termo de consentimento livre e esclarecido.

□ Critérios de exclusão:

- Pacientes que não tiveram confirmação histopatológica de Sarcoma de Kaposi;
- Não concordância com o TCLE.

Foi efetuada a biópsia da lesão sugestiva de SK, bem como foram coletadas amostras de sangue venoso periférico para a detecção viral.

Foram investigados dados demográficos, referentes ao sexo, idade, procedência e ocupação. O diagnóstico clínico foi baseado no aspecto clínico das lesões observadas sob boa iluminação. Os pacientes diagnosticados foram rastreados por tomografia computadorizada e/ou colonoscopia, broncoscopia e endoscopia digestiva alta.

O diagnóstico de SK foi realizado através de exame histopatológico. O sangue venoso periférico foi coletado no HUIBB e foi analisado no Laboratório de Virologia do ICB da UFPA.

Para a aquisição do DNA foi utilizado o método de extração de DNA total a partir de leucócitos do sangue periférico utilizando o kit de extração de DNA genômico Biopur.

Foi realizada a lise celular, na qual foram adicionados 200 μ L de sangue periférico, 200 μ L de Tampão de Lise celular e 20 μ L da enzima proteinase K em um microtubo de 2,0 mL. A mistura foi submetida a aquecimento à 56°C durante 15 minutos e agitação por vórtex a cada 5 minutos, para o rompimento da membrana plasmática.

Após esta etapa, foram adicionados 400 µL de tampão de ligação B6. A mistura de 800 µL fora transferida para um tubo spin plus associado a um tubo de reação de 2,0 mL. As amostras foram centrifugadas à 13.000 xg durante 2 minutos. O filtrado foi descartado e o tubo spin plus colocado em novo tubo de reação de 2,0 mL. A próxima etapa abrangeu o processo de lavagem (500 µL de solução de lavagem I; 800 µL de solução de lavagem II) e centrifugação (13.000 xg durante 1 minuto para cada solução de lavagem e uma última centrifugação na velocidade máxima por 4 minutos para remoção do excesso de etanol).

A etapa final equivale a eluição do DNA, com adição de 200 µL de tampão de eluição fornecido pelo kit, pré-aquecido à 56°C..

Para certificação da presença de DNA nas amostras, o mesmo passou por processo de quantificação no equipamento Qubit 2.0 Fluorometer, que identifica DNA com concentração entre 0,2 – 100 ng.

A PCR foi realizada em duas etapas (Nested PCR) para a amplificação da região ORF26 (233 pb), que objetivou identificar a infecção por HHV-8 na população estudada.

As reações foram executadas em um volume total de 50 µL, contendo 5 µg de DNA extraído, 0,2 mM de cada dNTP, 25 pmol de cada primer, 1,5 mM de MgCl₂ e 2,5 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen, New York). O par de iniciadores usados na reação de amplificação foi: (F1) 5' – AGCCGAAAGGATTCCACCAT – 3' e (R1) 5'-TCCGTGTTGTCTAC TCCAG -3'. A reação de amplificação da primeira etapa foi realizada nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94°C por 1 minuto, 35 ciclos de 1 minuto à 94°C, 1 minuto à 58°C e 1 minuto à 72°C. Os 35 ciclos serão seguidos por uma extensão final de 10 minutos à 72°C.

Na segunda etapa da amplificação foram utilizados 1 µL do produto da amplificação anterior, nas mesmas condições descritas acima, utilizando-se as seguintes sequências de iniciadores internos: (F2) 5'- TTCCACCATTGTGCTCGA AT - 3' e (R2) 5'-TACGTCCAGACGATATGTGC - 3'. Novamente, em cada reação de amplificação, após a desnaturação inicial a 94°C por 1 minuto, foram efetuados 40 ciclos de 1 minuto à 94°C, 1 minuto à 60°C e 1 minuto à 72°C. Os ciclos foram seguidos por uma extensão final de 10 minutos à 72°C.

Os produtos de PCR foram visualizados após eletroforese (100V/45 minutos) em gel de agarose a 2%, em tampão TAE 1x (TAE 50x estoque – TrisBase 60,5 M, Ácido acético 14,25 ml, EDTA (0,5 M/PH 8,0) 4,654 g e água destilada contendo 235,75 ml, mediante a utilização de transiluminador com fonte de luz ultra-violeta.

RESULTADOS

A população do estudo foi composta por 18 casos de SK associado ao HIV/Aids. Houve predomínio do sexo masculino (83,3 %) e da faixa etária dos vinte aos quarenta anos. A maioria dos indivíduos (77,8 %) procedem de Belém e região metropolitana. A profissão mais frequente foi a de vendedor (11,1 %), cabeleireiro (11,1 %) e auxiliar administrativo (11,1 %), observar tabela 1.

Os indivíduos apresentaram tempo de diagnóstico mínimo e máximo de infecção pelo HIV de um a sessenta meses, respectivamente. A maioria dos indivíduos (N=11) tiveram o diagnóstico há menos de um ano. Em relação ao tempo de surgimento das lesões cutâneas, houve variação mínima e máxima de dois a oitenta e quatro meses, respectivamente; sendo o predomínio de surgimento das lesões há menos de um ano.

Tabela 1 – Características demográficas de indivíduos com diagnóstico da infecção HIV/Aids e Sarcoma de Kaposi acompanhados no HUIBB, 2015.

Características demográficas	Frequência absoluta (n)	Frequência relativa (%)
Sexo		
Masculino	15	83,3
Feminino	3	16,7
Faixa etária		
20 F- 30	6	33,3
30 F- 40	6	33,3
40 F- 50	4	22,2
Mais de 50 anos	2	11,1
Procedência		
Belém e região metropolitana	14	77,8
Interior do estado do Pará	4	22,2
Profissão		
Vendedor	2	11,1
Cabeleireiro	2	11,1
Auxiliar administrativo	2	11,1
Outros	12	66,7

Fonte: Protocolo de Pesquisa, 2015.

Tabela 2. Distribuição quanto ao uso de TARV, acometimento visceral e uso de quimioterapia em pacientes com HIV/Aids e sarcoma de kaposi acompanhados no HUIBB no período de 2015.

	Frequência Absoluta (n)	Frequência relativa (%)
Uso de TARV		
Sim	14	77,8
Não	4	22,2
Acometimento visceral		
Sim	6	33,3
Não	7	38,9
Não informado	5	27,8
Órgão acometidos pelo SK		
Traqueia	3	50,0
Brônquios	2	33,3
Pulmões	1	16,7
Esôfago	2	33,3
Estômago	3	50,0
Intestino delgado	2	33,3
Intestino grosso	5	83,3
Uso de quimioterapia		
Sim	7	38,9

Não	11	61,1
Evolução para óbito		
Sim	5	27,8
Não	13	72,2
Total	18	100

Fonte: Protocolo de Pesquisa, 2015.

Quanto as características clínicas da lesão dermatológica, os pacientes apresentaram lesões tipo máculas, placas infiltradas, nódulos e tumores. Grande parte dos pesquisados possuíam lesões localizadas nos membros inferiores, e em seguida no tórax e cavidade oral.

No que se refere a contagem de linfócitos T CD4⁺, os pacientes foram divididos em três grupos: um grupo com contagem acima de 350 cel/mm³, outro grupo com contagem entre 200 e 349 cel/mm³ e um último grupo com contagem inferior a 200 cel/mm³. O menor valor foi de 14 células/mm³, e o maior de 674 células/mm³. A maioria dos indivíduos apresentaram contagem de linfócitos de CD4⁺ inferior a 200 cel/mm³, o que é compatível com o acometimento por sarcoma de kaposi e infecções oportunistas. Sobre a contagem da carga viral, 27,8 % apresentaram contagem de <10.000 cópias e 55,5 % apresentaram contagem ≥ 10.000 cópias. A carga viral mínima encontrada foi 53 cópias de RNA /μL e máxima foi 7.468.408 cópias de RNA/μL. A média do Log da carga viral encontrada foi alta (4,09 log10). De 16,7 % dos pacientes não foi possível verificar a contagem de carga viral.

Do total de pacientes pesquisados, 77,8 % faziam uso de terapia antirretroviral e 22,2% não faziam uso. O acometimento visceral esteve presente em 33,3 % da amostra, 38,9 % não o apresentaram e não foi possível saber o acometimento visceral de 27,8 % dos pacientes. O SK no estômago e traqueia foram os mais frequentes. Quanto à quimioterapia, 38,9 % a realizavam juntamente com a TARV. Os demais usavam apenas a TARV como tratamento. 27,8 % evoluíram a óbito porém não foi possível saber a causa da morte e o seu envolvimento com sarcoma de Kaposi.

Treze pacientes apresentaram infecção oportunistas (72,2 %). As infecções oportunistas mais encontradas nessa população foram: tuberculose pulmonar e pleural, pneumocistose e candidíase oral.

Figura 1 – Detecção da região *ORF26* do HHV-8 em gel de eletroforese a partir de amostras de sangue venoso periférico de indivíduos com HIV/Aids e Sarcoma de Kaposi acompanhados no HUIBB, 2015

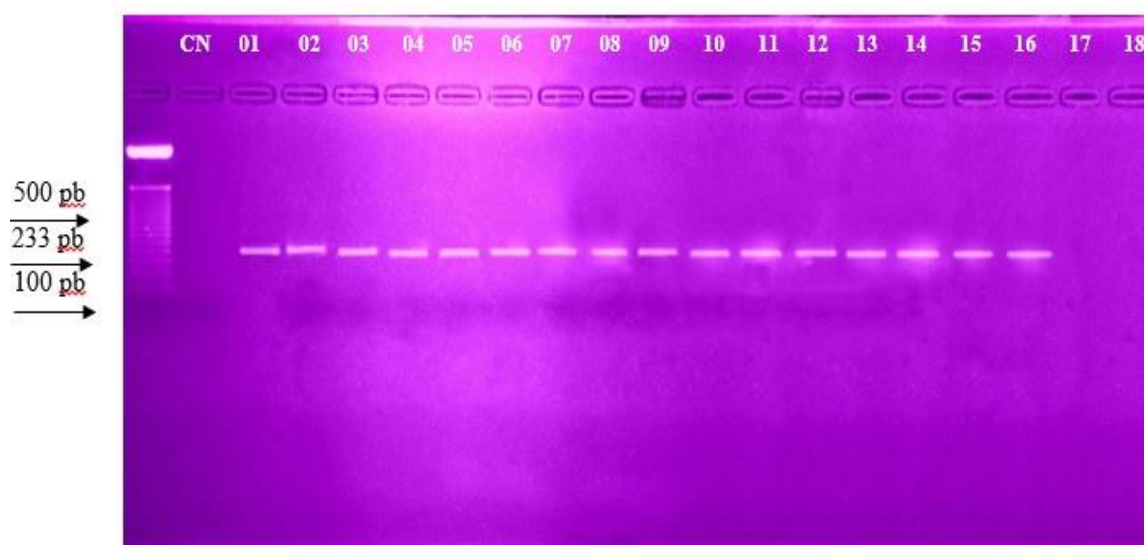


Tabela 3. Características clínicas dos pacientes com HIV/AIDS e SK atendidos no

Paciente N°	Tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV (em meses)	Tempo de lesão cutânea (em meses)	Localização/distribuição das lesões.	Aspecto clínico da lesão cutânea.	Acometimento de cavidade oral	HU JB B em 2015.
1	5	18	Membros inferiores, tórax, dorso, membro superior.	Nódulos e placas.	Sim	
2	Não informado	Não informado	Membro inferior, abdômen, tórax.	Placa infiltrada, tubérculos, lesão tumoral.	Não	
3	15	10	Membro inferior.	Placas e nódulos.	Não	
4	3	6	Tórax.	Placa.	Não	
5	1	8	Membro inferior.	Placas e nódulos.	Não	
6	11	4	Dorso, tórax, membro inferior.	Placas e nódulos.	Sim	
7	15	2	Tórax, membro superior.	Máculas, placas infiltradas e nódulos.	Sim	
8	Não informado	15	Cabeça, tórax e abdome.	Nódulo.	Não	
9	1	3	Membro superior, tórax, face, pescoço e pelve.	Nódulos e placas infiltradas.	Não	
10	4	11	Membro inferior e pés.	Nódulos e placas infiltradas.	Sim	
11	1	Não informado	Glúteo, pelve, membro inferior.	Mácula, pápula e nódulo.	Não	

12	Não informado	6	Membros inferiores.	Placa infiltrada e nódulo	Não	Fonte: Protocolo de Pesquisa, 2015. O vírus HH
13	48	84	Tórax, abdome e pé.	Placa infiltrada e nódulo	Não	
14	60	24	Mão esquerda e pés.	Placa infiltrada e nódulo.	Não	
15	3	5	Membro inferior esquerdo, membro superior direito e esquerdo.	Placa infiltrada e nódulos	Não	
16	4	5	Abdome.	Mácula.	Não	
17	7	6	Membro inferior direito	Mácula.	Não	
18	3	5	Membro superior direito, tórax, abdome, nariz e frente.	Mácula.	Não	

V-8 foi encontrado no sangue periférico de 16 pacientes. A não presença do HHV-8 no sangue periférico de dois pacientes pode ter sido devido à pouca quantidade de DNA extraído ou devido a limitações técnicas.

DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou predomínio do sexo masculino (83,3%) apoiando a literatura que afirma haver maior incidência de sarcoma de kaposi no sexo masculino, todavia ainda se obteve maior percentagem de participantes mulheres (16,7%), contra apenas (6,6%) de mulheres em um estudo conduzido em um Hospital Universitário do Espírito Santo e 15% em um estudo no Canadá.⁵

A faixa etária de maior prevalência (30-40 anos) pode corresponder a faixa etária de mudança do indivíduo sexualmente ativo infectado pelo HIV e sem tratamento, para o desenvolvimento da Síndrome da Imunodeficiência adquirida. De acordo com a OMS, o SK está entre as doenças consideradas definidoras de AIDS. E a progressão de portador do HIV para o diagnóstico de AIDS varia conforme o indivíduo, porém sem tratamento a maioria dos pacientes desenvolvem AIDS entre 10-15 anos após o início dos sintomas de infecção pelo HIV. A terapia antirretroviral pode deixar mais lenta a progressão da doença e prevenir a replicação viral.⁶

Em relação a procedência e profissão, o presente estudo mostrou respectivamente a região metropolitana de Belém e outras profissões como mais frequentes. Estes dados podem ser explicados pelo fato do hospital em que foi aplicado o estudo ter localização em Belém e o fato do estado do Pará ter grande extensão territorial, o que talvez ofereça maior dificuldade dos casos mais afastados conseguirem acesso ou diagnóstico para encaminhamento a um serviço de referência na capital, como é o caso do HUIBB. Não houve relação entre o SK e a ocupação trabalhista desses pacientes.

A maioria dos indivíduos (N=11) tiveram o diagnóstico há menos de um ano. O início tardio da terapia antirretroviral é uma das principais preocupações na luta contra a epidemia de aids pois ela aumenta significativamente a incidência de infecção, o risco de morte por aids (especialmente no primeiro ano de tratamento), os custos do sistema de saúde, bem como reduz a eficácia dos medicamentos antirretrovirais.⁷

Grande parte dos pesquisados (61%) possuíam lesões cutâneas localizadas nos membros inferiores, e em seguida no tórax (50%) e cavidade oral (22,2 %). Semelhante,

quanto ao local mais encontrado, aos estudos de Junger (2013) em que a região mais frequentemente atingida foram os membros inferiores. As lesões cutâneas podem ocorrer em qualquer local, mas geralmente são concentradas nas extremidades inferiores, cabeça e pescoço.^{8 9 10}

Contudo o presente estudo difere da literatura quanto ao segundo e terceiros locais mais encontrados (tórax e cavidade oral), pois Tiusse et al 2012 afirma que o local predominante foram os membros inferiores com 46% de frequência seguido da cabeça em 20%, e Di Lorenzo et al. 2007, afirma que as lesões cutâneas aparecem mais frequentemente nos pés, pernas, face especialmente no nariz e genitais.^{4 11}

Neste trabalho o acometimento visceral esteve presente em 33,3 % da amostra, divergindo do estudo de Junger (2013) em que 10% dos doentes possuíam envolvimento visceral. É estimado que aproximadamente metade dos pacientes com aids e sarcoma kaposi podem apresentar-se com lesões viscerais.^{8 1}

Quanto aos órgãos acometidos, o estômago e traqueia foram os locais mais frequentes concordando com a literatura a qual afirma que frequentemente o local mais envolvido é a pele seguida pelo trato pulmonar e digestivo, bem como nos linfonodos, podendo acometer fígado, pulmão e coração entre outros órgãos^{1 12}.

Quanto à quimioterapia, 38,9 % realizaram esta forma de tratamento associada a TARV. Os demais usavam apenas a TARV como tratamento. Este dado aproxima-se do estudo de Nguyen et al. (2008) no qual 42% dos pacientes pesquisados receberam quimioterapia, e distancia-se dos resultados de Junger (2013) e de Lima (2015) em que 29,7% e 77,3% dos doentes foram submetidos à quimioterapia respectivamente. Nas lesões cutâneas maiores, múltiplas ou acometendo vísceras, o tratamento sistêmico está indicado. Dentre estes, nos casos de doença disseminada, a quimioterapia é utilizada para atuar tanto nas lesões cutâneas como nas viscerais.^{13 8 14}

Sobre o seguimento, 72,2 % estão em acompanhamento e 27,8 % evoluíram a óbito, porém não foi possível saber a causa do óbito. Este resultado é proporcionalmente diferente do encontrado por Junger (2013) em que 18% do grupo faleceram. No trabalho de Nguyen et al (2008), houveram 15 óbitos (23%) durante o seguimento.^{8 13}

Nesse trabalho, treze pacientes apresentaram infecção oportunística (72,2 %) e a tuberculose pulmonar foi a mais frequente seguida da pneumonia, divergindo de Tiusse et al (2012) o qual afirma que foram observadas em pacientes com SK epidêmico as seguintes doenças oportunistas: neurocriptococose (10%), tuberculose pulmonar (20%), candidíase oral / esofágica (40%), hepatite B (10%), neurotoxoplasmose (20%) e tuberculose ganglionar (10%) sendo, portando, a candidíase oral/esofágica a doença oportunista mais frequente, assim como para Lima (2015).^{4 14}

No que se refere a contagem de linfócitos TCD4⁺ a maioria (72,2 %) dos indivíduos apresentaram contagem dessas células inferior a 200 cel/mm³, o que é compatível com os resultados de Lima (2015) em que 77,3% dos casos investigados possuíam contagem de células T-CD4⁺ abaixo de 200cél/mm³. O SK constitui uma das primeiras doenças reconhecidas em indivíduos com HIV, pode ocorrer em qualquer fase da infecção apesar de que esta malignidade é mais prevalente em pessoas com baixa quantidade de células CD4⁺.¹

Sobre a contagem da carga viral, a grande parte da amostra (55,5 %) apresentaram contagem de carga viral ≥ 10.000 cópias/ml com a média do log da carga viral de 4,09 log₁₀ cópias /ml. Assemelhando-se aos achados de Nguyen et al (2008) em que a

carga viral média do HIV foi de 5,0 log₁₀ cópias / ml. Existe uma relação direta entre a quantidade de HIV detectada e a rapidez com que a infecção progride. Níveis elevados de replicação do vírus e o aumento da carga viral estão associados a deterioração acelerada do sistema imune. Portanto, a carga viral é muito útil para avaliar a progressão da doença, indicar o início de terapia e para determinar a eficácia dos antirretrovirais.¹⁵

Quanto a detecção viral, o vírus HHV-8 foi encontrado no sangue periférico de 16 (88,9 %) dos pacientes. A não presença do HHV-8 no sangue periférico de dois pacientes pode ter sido devido à pouca quantidade de DNA extraído ou devido a limitações técnicas. No estudo de Broccolo et al. (2016) os valores positivos para o DNA do HHV-8 ou um número > 26 cópias / ml foram fortemente associados à doença SK ativa, enquanto que nem a detecção e a carga de RNA do HIV-1 nem a contagem de células T CD4⁺ foram significativamente associadas ao estado clínico do SK. Além disso, os valores positivos do DNA de HHV-8 mostraram-se mais preditivos de condições clínicas desfavoráveis, enquanto que os valores negativos de DNA HHV-8 foram associados a um estado clínico favorável.³

CONCLUSÃO

Houve predomínio do sexo masculino, idade entre 20-40 anos, procedentes da região metropolitana de Belém. Entre as profissões houve prevaletimento da de vendedor, cabeleleiro e auxiliar administrativo. A maioria obteve diagnóstico de HIV há menos de um ano e apresentava contagem de CD4⁺ abaixo de 200 células. A média do Log da carga viral encontrada foi alta (4,09 log₁₀).

As lesões encontradas foram do tipo: máculas, placas infiltradas, nódulos e tubérculos, havendo predominância do tipo placas em membros inferiores. Houve acometimento visceral em menos da metade dos casos, acometendo trato gastrointestinal e respiratório predominantemente. A maioria do grupo realizou tratamento exclusivamente com TARV, e outros sete realizaram quimioterapia adjuvante a TARV. Cinco indivíduos morreram durante o tratamento.

A tuberculose pulmonar foi a infecção oportunística mais frequente seguida da pneumonia. A detecção da região ORF26 do HHV-8 foi encontrada no sangue periférico de dezesseis dos dezoito participantes do estudo.

Com esses resultados advertimos falha na detecção precoce do HIV, a maioria dos pacientes com lesões do SK receberam o diagnóstico de HIV há menos de um ano e receberam tratamento tardio, conferindo um prognóstico mais restrito. Sugerimos, portanto, revisão das estratégias de saúde locais, visando o diagnóstico e tratamento do HIV antes do desenvolvimento da fase Aids.

REFERÊNCIAS

1. VIEIRA F, SOMERVILLE J, KENNEDY KL (Oral Kaposi's Sarcoma In HIV Positive Patients. A Case Report and A Review of Literature. **J AIDS Clin Res** 5:349, 2014.
2. WEN, Kwun Wah; DAMANIA, Blossom. Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (KSHV): molecular biology and oncogenesis. **Cancer letters**, v. 289, n. 2, p. 140-150, 2010.
3. BROCCOLO, Francesco et al. HHV-8 DNA replication correlates with the clinical status in AIDS-related Kaposi's sarcoma. **Journal of Clinical Virology**, v. 78, p. 47-52, 2016.

4. TIUSSI, Ricardo Montibeler et al. Kaposi's sarcoma: clinical and pathological aspects in patients seen at the Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes-Vitória-Espírito Santo-Brazil. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 87, n. 2, p. 220-227, 2012.
5. DUBROW, Robert et al. Association of CD4+ T-cell Count, HIV-1 RNA Viral Load, and Antiretroviral Therapy With Kaposi Sarcoma Risk Among HIV-infected Persons in the United States and Canada. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 75, n. 4, p. 382-390, 2017.2011.
6. HIV/AIDS. OMS. Disponível em: <http://www.who.int/features/qa/71/en/>. Acesso em agosto 2017.
7. GRANGEIRO, Alexandre et al. Late entry into HIV care: estimated impact on AIDS mortality rates in Brazil, 2003–2006. **PLoS One**, v. 6, n. 1, p. e14585, 2011.
8. JUNGER, Juliana Miglio Bensabat. **Estudo dos doentes com sarcoma de Kaposi após a introdução da terapêutica HAART nos últimos 19 anos no Hospital de Santa Maria-Lisboa (1994-2012)**. 2013. Tese de Doutorado
9. ARRUDA, Érico et al. Consensus of the Brazilian Society of Infectious Diseases and Brazilian Society of Clinical Oncology on the management and treatment of Kaposi's sarcoma. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 315-326, 2014.
10. SCHWARTZ, Robert A. et al. Kaposi sarcoma: a continuing conundrum. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 59, n. 2, p. 179-206, 2008.
11. DI LORENZO, Giuseppe et al. Management of AIDS-related Kaposi's sarcoma. **The lancet oncology**, v. 8, n. 2, p. 167-176, 2007.
12. BETSEM, Edouard et al. Epidemiology and genetic variability of HHV-8/KSHV in Pygmy and Bantu populations in Cameroon. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 5, p. e2851, 2014.
13. NGUYEN, Huong Q. et al. Persistent Kaposi sarcoma in the era of HAART: characterizing the predictors of clinical response. **AIDS (London, England)**, v. 22, n. 8, p. 937, 2008.
14. LIMA, Catarina Tenório de. **Sarcoma de Kaposi: características clínico-laboratoriais estadiamento e desfecho em pacientes com aids atendidos no centro de referência de RECIFE/PE no período de 2004 a 2014**.2015.107f.Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal De Pernambuco,Pernambuco,2015.
15. PEREIRA, Patricia Fonseca; CUZZI, Tullia; GALHARDO, Maria Clara Gutierrez. Immunohistochemical detection of the latent nuclear antigen-1 of the human herpesvirus type 8 to differentiate cutaneous epidemic Kaposi sarcoma and its histological simulators. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 88, n. 2, p. 243-246, 2015.

ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: SARCOMA DE KAPOSI EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS: abordagem molecular, clínica, histopatológica e terapêutica

Pesquisador: Julius Caesar Mendes Soares Monteiro

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);

Versão: 1

CAAE: 34639414.7.0000.0017

Instituição Proponente: Hospital Universitário João de Barros Barreto - UFPA

Patrocinador Principal: Universidade Federal do Pará
Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 787.848

Data da Relatoria: 26/08/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP. Será realizado um estudo com dois braços simultâneos. No primeiro braço será analisado de forma transversal e retrospectiva as características demográficas, clínicas, histopatológicas e terapêuticas de pacientes infectados pelo HIV com confirmação histopatológica de Sarcoma de Kaposi. No segundo braço, de forma prospectiva e longitudinal, serão analisadas as características demográficas, clínicas, histopatológicas, terapêuticas e genéticas do hospedeiro e do HHV-8 em pacientes infectados pelo HIV-1 e Sarcoma de Kaposi.

O Herpesvirus Humano – 8 (HHV-8) foi identificado e caracterizado por Chang e colaboradores em 1994 em pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida (SIDA)¹. É membro da família Herpesviridae, subfamília Gammaherpesvirinae, gênero Rhadinovirus. É constituído de dupla fita de DNA e foram caracterizados 5 subtipos, A, B, C, D, E, F e Z. Este vírus foi rapidamente encontrado em todas as formas epidemiológicas de Sarcoma de Kaposi (SK) em pacientes SIDA a partir da década de 1980, indicando ser o provável agente etiológico. Este tumor que afeta a

Endereço: RUA DOS MUNDURUCUS 4487

Bairro: GUAMA

CEP: 66.073-000

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3201-6754

Fax: (91)3201-6653

E-mail: cephujbb@yahoo.com.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



Continuação do Parecer: 787.848

corrente sanguínea e vasos linfáticos é caracterizado por lesões neoplásicas cutâneas e/ou viscerais. São descritas quatro

classificações clínico-epidemiológicas: SK clássico, SK endêmico, SK iatrogênico e SK epidêmico associado à SIDA. A presença do HHV-8 no epitélio acometido é imprescindível para o processo neoplásico, desencadeando uma resposta inflamatória local e surgimento de células tumorais fusiformes com proliferação anormal de vasos e extravasamento de glóbulos vermelhos com depósitos de hemossiderina e acentuado infiltrado inflamatório. Estudos tem demonstrado que a frequência de indivíduos que já entraram em contato com este vírus não é uniforme, apresentando-se uma soroprevalência baixa (10%) no norte da Europa, Ásia e América do Norte; intermediária (20-30%) no mediterrâneo, leste da Europa e Caribe; alta prevalência (>50%) na África Central e do Sul. No Brasil, tem-se verificado prevalências distintas, variando de 1,1% em indivíduos hígidos, 20,4%-25,9% em pacientes infectados pelo HIV, 75,3% em descendentes de ameríndios na Amazônia¹⁶. Desta forma, há poucos trabalhos que relacionam o subtipo viral com a apresentação clínica e histopatológica do SK, e o presente estudo propõem-se a realizar esta investigação de forma a contribuir na caracterização do SK em uma amostra de pacientes infectados pelo HIV-1 da Amazônia Brasileira.

Hipótese:

Nula: Não há características demográficas, clínicas, histopatológicas, virais e genéticas do hospedeiro que influenciam no curso da doença Sarcoma de Kaposi em pacientes coinfectados pelo HIV-1. Alternativa: Há características demográficas, clínicas, histopatológicas, virais e genéticas do hospedeiro que influenciam no curso da doença Sarcoma de Kaposi em pacientes coinfectados pelo HIV-1. Alternativa: Há características demográficas, clínicas, histopatológicas, virais e genéticas do hospedeiro que influenciam no curso da doença Sarcoma de Kaposi em pacientes coinfectados pelo HIV-1. Alternativa: Há características demográficas, clínicas, histopatológicas, virais e genéticas do hospedeiro que influenciam no curso da doença Sarcoma de Kaposi em pacientes coinfectados pelo HIV-1.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Identificar e relacionar características demográficas, clínicas, histopatológicas, genéticas virais e do hospedeiro com o curso do Sarcoma de Kaposi e resposta ao tratamento em pacientes coinfectados pelo HIV-1.

Endereço: RUA DOS MUNDURUCUS 4487

Bairro: GUAMA

CEP: 66.073-000

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3201-6754

Fax: (91)3201-6663

E-mail: cephujobb@yahoo.com.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



Continuação do Parecer: 787.848

Objetivo Secundário:

- Identificar retrospectivamente as características clínicas, demográficas, histopatológicas e terapêuticas de pacientes infectados pelo HIV-1 com Sarcoma de Kaposi;
- Determinar prospectivamente a prevalência da coinfeção pelo HHV-8 e caracterizar seus subtipos virais em pacientes infectados pelo HIV-1 com Sarcoma de Kaposi;
- Relacionar as características virais e genéticas do hospedeiro com a apresentação clínica da lesão e com as alterações morfológicas à histopatologia;
- Relacionar as características virais, genéticas do hospedeiro, apresentação clínica e alterações morfológicas com a contagem de Linfócitos T CD4+ e carga viral do HIV-1;
- Relacionar as características virais, genéticas do hospedeiro, apresentação clínica e alterações morfológicas com o estadiamento do Sarcoma de Kaposi.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os possíveis riscos desta pesquisa em relação o sujeito da pesquisa poderá se relacionar com constrangimentos, com dor no local da punção venosa ou no local da biópsia ou com quebra de sigilo. Estes riscos serão fortemente vigiados pelos pesquisadores, evitando-se falar sobre a pesquisa na frente de terceiros, não divulgação de nomes dos pacientes e adotando-se técnica apropriada para a coleta da amostra sanguínea.

Benefícios:

Os benefícios deste estudo não se reverterão de modo direto à curto prazo aos sujeitos da pesquisa do primeiro braço do estudo, e poderá se reverter em diagnóstico histopatológico ou não de Sarcoma de Kaposi para os indivíduos do segundo braço. Porém possibilitará o conhecimento epidemiológico de um estudo pioneiro acerca das características demográficas, clínicas, genéticas, histopatológicas do Sarcoma de Kaposi na população amazônica, inferindo possibilidade de evolução desfavorável da doença e da possível resposta terapêutica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa terá como critério de inclusão indivíduos maiores de 18 anos; indivíduos com diagnóstico confirmado de infecção pelo HIV-1, segundo o algoritmo do Ministério da Saúde do Brasil e indivíduos com suspeita clínica dermatológica e confirmação histopatológica de SK. E como de exclusão antecedente pessoal prévio de SK com tratamento quimioterápico; pacientes grávidas e indivíduos portadores de outras neoplasias. Possibilitará o conhecimento epidemiológico de um estudo pioneiro acerca das características demográficas, clínicas, genéticas,

Endereço: RUA DOS MUNDURUCUS 4487

Bairro: GUAMA

CEP: 66.073-000

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3201-8754

Fax: (91)3201-6663

E-mail: cephujbb@yahoo.com.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



Continuação do Parecer: 787.848

histopatológicas do Sarcoma de Kaposi na população amazônica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos obrigatórios apresentados e de acordo com as resoluções da CONEP.

Recomendações:

Deverá ser informado ao CEP:

- Envio de Relatório de Cancelamento;
- Envio de Relatório de Suspensão de projeto;
- Comunicação de Término do projeto.

Deverá ser encaminhado relatório Parcial (semestral) e, ao final, elaborado um relatório consolidado, incluindo os resultados finais da pesquisa, em prazo máximo de 60 (sessenta) dias, após a finalização da pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto considerado aprovado por este Colegiado na reunião do dia 01/09/2014.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, este Colegiado manifesta-se pela APROVAÇÃO do protocolo de pesquisa por estar de acordo com a Resolução nº466/2012 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde/MS.

Ainda em atendimento a Res. 466/2012 esclarecemos que a responsabilidade do pesquisador é indelegável, Indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais. Além de apresentar o protocolo devidamente instruído ao CEP ou à CONEP, aguardando a decisão de aprovação ética, antes de iniciar a pesquisa; de elaborar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;

Cabe ainda ao pesquisador:

- 1- desenvolver o projeto conforme delineado;
- 2- Em acordo com a Resolução 466/12 CNS, Itens X.1.- 3.b. e XI.2.d, os pesquisadores responsáveis deverão apresentar relatórios parcial semestral e final do projeto de pesquisa, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa. Os relatórios deverão ser inseridos no Sistema Plataforma Brasil pelo ícone "Inserir Notificação" disponível para projetos

Endereço: RUA DOS MUNDURUCUS 4487

Bairro: GUAMA

CEP: 66.073-000

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3201-6754

Fax: (91)3201-6663

E-mail: cephujbb@yahoo.com.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



Continuação do Parecer: 787.848

aprovados.

- 3- apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP, a qualquer momento;
- 4- manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 05 anos após o término da pesquisa;
- 5- encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto;
- 6- justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

BELEM, 11 de Setembro de 2014

Assinado por:
João Soares Felício
(Coordenador)

Ana Maria Calabrita Cardoso
Coordenador Adjunto do
CEP / NUJBB / UFPA

Endereço: RUA DOS MUNDURUCUS 4487

Bairro: GUAMA

CEP: 66.073-000

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3201-6754

Fax: (91)3201-6663

E-mail: cepujbb@yahoo.com.br