

11116

DETECCION DEL VIRUS HERPES 8 (VHH-8) MEDIANTE LA PRUEBA DE PCR
EN MUESTRAS DEL SARCOMA DE KAPOSÍ DE PACIENTES VIH POSITIVOS
DEL HOSPITAL SIMÓN BOLÍVAR DE BOGOTÁ

INVESTIGADORES

DIANA CAROLINA GRAJALES CHAVEZ

NELSON HERNÁN RAMÍREZ LÓPEZ

YURI ANDREA PEÑA GANTIVA

COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO

BOGOTÁ D.C., 2007

DETECCION DEL VIRUS HERPES 8 (VHH-8) MEDIANTE LA PRUEBA DE PCR
EN MUESTRAS DEL SARCOMA DE KAPOSI DE PACIENTES VIH POSITIVOS
DEL HOSPITAL SIMON BOLIVAR DE BOGOTA

INVESTIGADORES

DIANA CAROLINA GRAJALES CHAVEZ

NELSON HERNAN RAMIREZ LOPEZ

YURI ANDREA PEÑA GANTIVA

ASESOR CIENTIFICO

DOCTORA GLORIA MERCEDEZ BALEN

O.D, Patóloga Oral y Medios Diagnósticos

ASESOR METODOLOGICO

DOCTORA MARTHA CAYCEDO

O.D, especialista en Epidemiología

COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO

BOGOTA D.C, 2007

DETECCION DEL VIRUS HERPES 8 (VHH-8) MEDIANTE LA PRUEBA DE PCR
EN MUESTRAS DEL SARCOMA DE KAPOSÍ DE PACIENTES VIH POSITIVOS
DEL HOSPITAL SIMÓN BOLÍVAR DE BOGOTÁ

INTEGRANTES

DIANA CAROLINA GRAJALES

NELSON HERNÁN RAMÍREZ

YURI ANDREA PEÑA G.

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar el título de
odontólogo.

DIRECTOR TEMÁTICO

DOCTORA GLORIA BALLEEN

O.D, Patóloga Oral y Medios Diagnósticos

DIRECTOR METODOLÓGICO

DOCTORA MARTHA CAYCEDO

O.D, especialista en Epidemiología

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Bogotá, D.C. 2007

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedicamos a los pacientes con síndrome de inmunodeficiencia aguda (SIDA) ya que ellos fueron nuestra fuente de inspiración para llevar a cabo este trabajo de investigación el cual pretende aportar información de importancia para el diagnóstico, tratamiento y prevención de enfermedades concomitantes en la infección por VIH y así mejorar la calidad de vida de estos pacientes.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCION

1. ASPECTOS TEORICO CIENTIFICOS	12
1.1 PROBLEMA	12
1.2 JUSTIFICACION	12
1.3 PROPOSITO	13
1.4 MARCO REFERENCIAL	13
1.4.1.1 MARCO CONCEPTUAL	13
1.4.2 MARCO TEORICO	14
1.4.2.1 ANTECEDENTES HISTORICOS	14
1.4.2.2 REACCION EN CADENA DE POLIMERASA PCR	19
1.4.2.3 SARCOMA DE KAPOSÍ (SK)	20
1.4.2.4 CLASIFICACION	21
1.4.2.5 CARACTERISTICAS HISTOPATOLOGICAS	21
1.4.2.6 DIAGNOSTICO DEL SARCOMA DE KAPOSÍ	23
1.4.2.7 CLASIFICACIÓN DEL SK	24
1.4.2.8 INMUNOLOGIA DEL SIDA	25
1.4.2.9 EPIDEMIOLOGIA Y PATOGENESIS	26
1.5 OBJETIVOS	27
1.5.1 OBJETIVO GENERAL	27
1.5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	27
2. ASPECTOS METODOLOGICOS	28
2.1 TIPO DE ESTUDIO	28
2.2 OBJETO DE ESTUDIO	28
2.3 POBLACION OBJETO	28

2.4	CRITERIOS DE SELECCIÓN	28
2.4.1	CRITERIOS DE INCLUSION	28
2.4.2	CRITERIOS DE EXCLUSION	28
2.5.	INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS.	29
2.5.1	INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS CLINICOS	29
2.5.2	INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS LABORATORIO	31
2.6	PROCEDIMIENTO	32
2.6.1	PRESENTACION DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACION	32
2.6.2	SELECCIÓN DE LA MUESTRA	32
2.6.3	PRUEBAS DE LABORATORIO	33
2.6.3.1	EXTRACCIÓN DE DNA	33
2.6.3.2	PURIFICACION DE ADN	33
2.6.3.3	PRECIPITACION DEL ADN	33
2.6.3.4	SELECCIÓN DE LOS PRIMERS	34
2.6.3.5	PRUEBA DE PCR	34
2.7	TABULACION Y ANALISIS DE DATOS	40
3.	ANALISIS ESTADISTICO	41
3.1	RESULTADOS	41
3.2	DISCUSION	45
3.3	CONCLUSIONES	46
3.4	RECOMENDACIONES	47
	BIBLIOGRAFIA	

INTRODUCCION

El Sarcoma de Kaposi (SK) es la neoplasia más común en los individuos infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH).

Durante mucho tiempo el Sarcoma de Kaposi ha sido objeto de estudio de diversos grupos científicos europeos que se dieron a la tarea de demostrar la participación de agentes infecciosos en la patogenia del tumor. Como resultado de tales esfuerzos, en los primeros meses de 1996 fue tipificada la secuencia genómica del virus y pudo establecerse que estaba muy relacionado con la familia Herpesviridae, en estas investigaciones se ha asociado el virus tipo 8 (VHH-8) con el Sarcoma de Kaposi. En Colombia aun no se ha realizado estudios que apoyen dicha teoría.

1. ASPECTOS TEORICO CIENTIFICO

1.1 PROBLEMA

El sarcoma de Kaposi, es la neoplasia más común en los individuos infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), durante mucho tiempo fue objeto de estudio de diversos grupos científicos de países como África, España y Estados Unidos entre otros. Estos grupos detectaron fragmentos de ácido desoxirribonucleico (ADN) de origen viral, en muestras de lesiones del sarcoma y se dieron a la tarea de demostrar la participación de agentes infecciosos en la patógena del tumor. Los resultados de dichos estudios demostraron que existe una relación consistente entre la infección por el Virus del Herpes tipo 8 (VHH-8) y el desarrollo del Sarcoma de Kaposi. En Colombia aun no se han realizado estudios que apoyen esta teoría, por esta razón cabe preguntar ¿Esta presente el virus herpes 8 (VHH-8) en el sarcoma de Kaposi de los pacientes con inmunodeficiencia adquirida del Hospital Simón Bolívar de la ciudad de Bogotá?

1.2 JUSTIFICACION

El beneficio de la realización de este trabajo principalmente esta encaminado en mejorar el estilo y calidad de vida de los pacientes con virus de la inmunodeficiencia adquirida (VIH), permitiendo en la investigación en diferentes líneas de estudio que puedan contribuir de manera positiva en el manejo de prevención y control de las enfermedades concomitantes del síndrome de inmunodeficiencia humana, siendo mas específicos en nuestra línea de investigación, con el sarcoma de Kaposi. Mediante la identificación y utilización de antirretrovirus que permitan prevenir el desarrollo de dichas enfermedades o en caso de presentarlas producir un retroceso significativo de las mismas.

1.3 PROPOSITO

El objetivo principal de este trabajo es establecer si los pacientes con virus de la inmunodeficiencia humana que padecen Sarcoma de Kaposi presentan virus herpes 8 (VHH-8). Esto se lleva a cabo mediante el manejo adecuado de la técnica de PCR (reacción en cadena de polimerasa), que permite amplificar directamente secuencias específicas del DNA virai con el propósito de identificar dicho virus en las muestras de pacientes con Sarcoma de Kaposi.

1.4 MARCO REFERENCIAL

1.4.1 MARCO CONCEPTUAL

Las consecuencias clínicas de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) obedecen a la capacidad de este agente de alterar el sistema inmunitario del huésped. (Bruce D Walter 2002)

Un número de lesiones orales ha sido reportado en asociación con el VIH- pacientes infectados con desarrollo del sarcoma de kaposi causado por herpes virus humano tipo 8. (Oral surg Oral med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2003-, 95:80-4)

Hace más de seis años que se identificó la presencia de un nuevo virus de la familia del virus herpes humano en el SK Este virus se conoce con el nombre de herpes virus asociado a sarcoma de Kaposi (KSHV) o Virus del herpes humano tipo 8. (Chang 1994).

El virus herpes humano tipo 8 se ha detectado en el 95% de los casos de SK asociados o no al SIDA y parece que se puede definir una relación constante y consistente entre la infección por VHH8 y el desarrollo de todas las formas de Sarcoma de Kaposi. (Lin 1996).

1.4.2 MARCO TEORICO

1.4.2.1 ANTECEDENTES HISTORICOS

El síndrome de inmunodeficiencia humana (SIDA) es la primera gran "Pandemia"; de la segunda mitad del Siglo XX siendo una enfermedad vírica transmisible descubierta en estados unidos en 1981, la enfermedad parece haberse iniciado en África central, en fecha tan temprana como la década de 1950. Su etiología se descubrió en el instituto Pasteur de Paris (1983). Se debió al equipo de Luc Montagnier, que logro el aislamiento de un retrovirus a partir de un ganglio infectado de un homosexual y que fue denominado en aquel momento virus asociado a linfadenopatía (LAV). Un año después (1984) Robert Gallo describió, otro virus muy similar que denomino HTLV-III y Levy, ese mismo año, otro que llamo ARV (virus relacionado con el sida). Se demostró que los tres virus aislados eran iguales, por lo cual el comité internacional de virus les denomino con un mismo nombre: VIH (virus de la inmunodeficiencia humana). Recientemente se ha aislado un virus (el virus de la inmunodeficiencia de los simios o VIS) emparentado con el VIH-1 y VIH-2, apartor de monos verdes africanos, y se cree que es el antecesor del virus del sida. De alguna forma este virus entro en los seres humanos y muto a los dos virus africanos humanos SBL y LAV-2 que son virus intermedios; estos virus intermedios han podido evolucionar al muy virulento VIH-1. Una vez establecido el VIH-1; se extendió al Caribe y posteriormente a los Estados Unidos y a Europa; apareciendo en todos los países y cuyo numero de casos se ha incrementado de forma notoria en los últimos años.

Desde el descubrimiento del SIDA en 1981, los esfuerzos conjuntos de epidemiológicos inmunólogos y biólogos moleculares han producido avances espectaculares en el conocimiento de esta enfermedad. Sin embargo, a pesar de todos estos avances, el pronóstico de los pacientes con SIDA aun es desalentador. De los quinientos mil pacientes comunicados, murieron más de trescientos mil a finales de 1996. Con el tiempo, es probable que las verdaderas cifras de mortalidad se eleven aun mucho más. Quizá se aproximen al cien por ciento. Sin embargo, cerca de cinco por ciento de los pacientes con infección del virus de inmunodeficiencia humana comprobada no desarrolla enfermedad progresiva. Sus cifras de linfocitos CD4+ permanecen por arriba de 500/ul. Estos pacientes que a pesar del tiempo prolongado no progresan hacia la enfermedad se encuentran bajo estudio intenso porque pueden suministrar indicios para controlar la infección del virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Algunos parecen estar infectados por virus mutantes que carecen de la proteína nef, mostrando así el talón de Aquiles del VIH. Otros desarrollan una respuesta inmunológica vigorosa, el análisis de la cual será útil en el desarrollo de vacunas. En este momento sin embargo, la prevención y las medidas de salud pública aun son la única esperanza de control.

La neoplasia más común en los individuos infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) es el sarcoma de Kaposi esta enfermedad fue descrita por el Dr. M. Kaposi en Viena en el año 1872, bajo el nombre de "sarcoma múltiple pigmentado idiopático". Entre los años 1950 y 1960 se describió en forma endémica en África central. En 1970 se lo asoció con estados inmunodeprimidos iatrogénicos (pacientes transplantados, etc...).

En 1980 se lo relacionó con el SIDA y se detectaron partículas virales del tipo herpético en cultivos de tejidos y en biopsias. También se reconocieron elementos que lo vincularon al CMV, detectándose antígenos tempranos y tardíos, CMV DNA

y CMV RNA en cultivos de células de Sarcoma de Kaposi (SK) por diversos métodos.

Si bien la entidad ha servido como modelo en el estudio del desarrollo de neoplasias en inmunodeprimidos, su origen permanece controversial, planteándose como posibles fuentes, el endotelio vascular o linfático, los pericitos y también los miofibroblastos.

La microscopia electrónica ha demostrado elementos de las diferentes células en las células del SK. Con la inmunohistoquímica (IHQ) se ha demostrado positividad para factor VIII y también para Ulex europaeus en los vasos y CD34 y Vimentina en las células fusiformes. También se detecta lámina y colágeno IV. En 1981, los Centros para la prevención y el Control de las enfermedades (siglas en inglés: CDC) publicaron un informe sobre 21 casos del sarcoma de Kaposi (SK) diagnosticados en hombres homosexuales y bisexuales previamente saludables de la Ciudad de Nueva York y del estado de California. Este "Brote" fue el inicio de lo que ahora se conoce como la epidemia del SIDA, y hoy en día, el SK es el tumor más común que se desarrolla en las personas con el SIDA. Al ser comparado contra el riesgo de las personas VIH negativas, las personas VIH positivas corren un riesgo incrementado por 200,000 veces de desarrollar el SK.

En diciembre de 1994, un equipo de investigadores de la Universidad de Columbia publicó sus descubrimientos, los cuales apoyan la participación de un nuevo herpesvirus humano como la causa potencial del SK. El biólogo molecular Yuan Chang, profesor de epidemiología Patrick Moore, y sus colegas publicaron sus datos en la revista Science. Durante los últimos 14 meses, se han publicado más de 45 informes clínicos sobre este nuevo herpesvirus. Se le ha denominado como el herpesvirus asociado con el Sarcoma de Kaposi (HVS-K), y el herpesvirus humano tipo 8 (VHH-8). El doctor Donald Ganem y sus colegas de la Universidad de California en San Francisco han aislado e introducido el crecimiento del virus in vitro.

El equipo de Chang y Moore empleó un método único de amplificar las secuencias de DNA llamado el análisis diferencial representacional (ADR), seguido por la reacción de polimerasa encadenada (PCR). El método aísla las secuencias únicas del DNA localizadas solo en los tejidos dañados (no normales) del individuo.

Chang, Moore, y sus colegas aislaron las secuencias únicas del herpesvirus en: (1) 93% de 27 muestras del tejido de personas con el SK relacionado con el SIDA, (2) 11% de 27 muestras de tejido de personas con la linfoma relacionada con el SIDA, y (3) 25% de muestras de nódulos linfáticos aislados de personas con SIDA sin el SK. También descubrieron las secuencias entre biopsias cutáneas aparentemente normales aisladas de locales cercanos a tumores del SK. No lograron aislar las secuencias de las muestras de control, incluyendo muestras de otros órganos de los mismos pacientes del SK relacionado con el SIDA, biopsias de enfermedades oportunistas de pacientes con el SIDA, y varias biopsias pertenecientes a personas VIH negativas.

Chang y Moore anotaron que las secuencias únicas no se parecían a las de otros herpesvirus, con la excepción de una homología de 96% con el VEB. El VEB está asociado con la linfoma, el cáncer oral-esofágico y la leucoplaquia vellosa oral. Además la nueva secuencia viral manifestaba una homología de 55% con el herpesvirus saimiri, una causa de la linfoma en los monos del nuevo mundo. Chang y Moore concluyeron que el VHSK es un nuevo herpesvirus humano.

Desde el reporte original sobre el VHSK, numerosos equipos de laboratorio internacionales han reportado el descubrimiento de secuencias de DNA del VHSK en todas las clases de SK y en varios tejidos corporales.

Desde 1995, cuando por vez primera fueron detectados fragmentos de ácido desoxirribonucleico (ADN) de origen viral, en muestras de lesiones del sarcoma, diversos grupos científicos se dieron a la tarea de demostrar la participación de agentes infecciosos en la patogenia del tumor. Como resultado de tales esfuerzos,

en los primeros meses de 1996 fue tipificada la secuencia genómica del virus y pudo establecerse que estaba muy relacionado con la familia Herpesviridae, por lo que se le denominó HHV8 (por Human Herpes Virus-8) o KSHV (de Kaposi's Sarcoma-associated herpes virus). Más tarde, investigadores del Instituto Médico Howard Hughes, obtuvieron las primeras microfotografías electrónicas de la novel partícula viral, en células humanas de linfoma peritoneal. Reportes posteriores han permitido vincular, hasta el momento, al virus herpes tipo 8 con el sarcoma de Kaposi, el linfoma peritoneal y el linfoma intracavitario difuso. Un trabajo experimental realizado en fecha reciente, no sólo ha corroborado la participación del HHV8 en la génesis del sarcoma de Kaposi, sino que ha permitido develar parte importante de los mecanismos moleculares activados por éste y relacionados con la proliferación incontrolable de las células.

Desde hace algún tiempo, el análisis del material genético del virus había revelado la presencia de una secuencia homóloga a aquella que codifican para ciclina D y ciertos receptores de membrana ligados a proteína G, como el receptor para interleucina 8 (IL-8). Los científicos de la Universidad de Cornell, en Nueva York, dirigidos por el doctor Leandros Arvanitakis, mediante técnicas de clonación y amplificación de ADN, promovieron la expresión de dicha secuencia y como resultado de ello, descubrieron el receptor viral. Se trata de una molécula efectora, dependiente de proteína G, por lo que fue llamada receptor GPCR-KSHV, del inglés G-Protein Coupled Receptor-Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus.

El herpes virus-8 se ha relacionado desde su identificación con la aparición del sarcoma de Kaposi en hombres homosexuales infectados por VIH-1. Sin embargo, no se conocen ni las vías de transmisión ni los mecanismos etiopatogénicos que dan lugar a la característica proliferación de los vasos sanguíneos. Tampoco se conocen marcadores que permitan hacer un pronóstico de evolución hacia estadios más avanzados de la enfermedad.

El conocimiento de sus secuencias de DNA ha permitido el desarrollo de técnicas de reacción en cadena de la polimerasa para detectarlo.

Desde el comienzo reconocido de la epidemia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) en 1981, se han descrito tres nuevos miembros de la familia de herpes virus del ser humano, los herpes virus 6,7 y 8.

La técnica mas utilizada en la actualidad para la identificación del virus herpes 8 en pacientes inmunosuprimidos con sarcoma de kaposi es la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) es tan efectiva en la amplificación de secuencias de DNA para usarlas en la replicación de virus. Dicha prueba fue desarrollada entre 1983 y 1985 por Kary Mullis e hizo posible la síntesis de grandes cantidades de un fragmento de DNA sin clonarlo.

1.4.2.2 REACCION EN CADENA DE POLIMERASA PCR:

La técnica PCR consiste en sintetizar fragmentos con secuencias idénticas a las que flaquea la secuencia diana, esto se consigue fácilmente con una maquina sintetizadora de DNA, esto oligonucleotidos sintéticos suelen tener unos 20 nucleótidos de longitud y actúan de cebadores o iniciadores de la síntesis de DNA. El ciclo en si de la PCR tiene lugar en tres fases. En primer lugar el DNA diana que contiene la secuencia que va a amplificarse se desnaturaliza mediante calentamiento para separar sus cadenas complementarias. Normalmente, el DNA diana tiene una longitud de 100 a 5000 pares de bases. A continuación, se añade un exceso de cebadores y se hace descender la temperatura, de forma que los cebadores puedan formar puentes de hidrogeno con el DNA a ambos lados de la secuencia diana (fase 2). Debido a que existe un exceso de cebadores, las cadenas del DNA diana prácticamente siempre se asociaran a los cebadores en vez de entre si. Finalmente, se añaden a la mezcla de reacción nucleosidos trifosfato y una DNA polimerasa. La DNA polimerasa extiende los cebadores y

sintetiza copias de la secuencia diana de DNA. (fase3) solo pueden utilizarse polimerasa que sea capaces de actuar a las temperaturas elevadas empleadas en las técnica de PCR. Dos enzimas de uso muy extendido son la polimerasa TAQ de la bacteria termofila *thermus acuaticus* y la polimerasa VENT de *thermococcus litoralis*. Al final de un ciclo, las secuencia diana de ambas cadenas han sido copiadas.

1.4.2.3 SARCOMA DE KAPOSI (SK)

El sarcoma de Kaposi, o SK, es un tipo de cáncer. Fue una de las primeras enfermedades que se observaron en las personas con SIDA y sigue siendo uno de los tipos de cáncer más frecuentes en los individuos VIH positivos.

Actualmente, la mayoría de los investigadores coinciden en que un virus llamado virus herpes asociado al Sarcoma de Kaposi (VHSK), también llamado virus herpes humano 8 (VHH 8), causa el sarcoma de Kaposi. Sin embargo, el virus por sí solo, no es suficiente para ocasionar SK. Las deficiencias del sistema inmunológico, como las que presentan las personas con SIDA, pueden permitir que el virus cause la enfermedad.

Aproximadamente un 30% de todos los hombres VIH positivos gay o bisexuales están infectados con el VHSK, mientras que sólo entre un 2% y 3% de los pacientes VIH positivos receptores de transfusiones o hemofílicos tienen el virus. En lo que respecta a las mujeres heterosexuales VIH positivas, sólo entre el 3% y el 4% están infectadas con el VHSK.

Hay informes que indican que el SK se ha desarrollado en algunas personas VIH positivas que tienen recuentos de células T relativamente altos (aproximadamente

500 células/mm³). El riesgo de desarrollar el SK, en especial en personas coinfectadas con el VIH y el VHSK, aumenta a medida que el sistema inmunológico se daña y se debilita. Afortunadamente, la terapia anti-VIH ha hecho posible que muchas personas VIH positivas puedan mantener un sistema inmunológico saludable y así, prevenir el desarrollo del SK.

1.4.2.4 CLASIFICACION

Debido a que el SK es una neoplasia multicéntrica no se puede clasificar mediante el sistema TNM que sirve para otros tumores sólidos. Sin embargo hay ciertas características clínicas que pueden identificar las diferentes presentaciones del SK y su curso clínico ⁽¹⁾.

El sistema de clasificación mas usado antes de la epidemia de SIDA se basaba en la experiencia obtenida de los países de África ecuatorial. Con la aparición del SK asociado al SIDA y sus características agresivas, se volvió claro que se requería de un nuevo sistema de clasificación para identificar las nuevas características de este grupo de pacientes. La clasificación inicial tomó en cuenta la presentación clínica del SK y los subtipos A (sin) y B (con) síntomas sistémicos.

Un sistema de clasificación mas reciente, fue desarrollado específicamente para los SK asociados al SIDA y este toma en cuenta tanto las características clínicas como los factores de laboratorio y reconoce la importancia de los conteos de las células T ayudadoras ⁽¹⁾.

Otra clasificación recomendada por el Grupo de Estudios Clínicos para el SIDA, utiliza tres parámetros (extensión del tumor, estado inmune y severidad de la enfermedad sistémica) para dividir a los pacientes en grupos de pobre y de buen pronóstico ⁽¹⁾.

1.4.2.5 CARACTERISTICAS HISTOPATOLOGICAS

Histológicamente el SK es una lesión compleja. En las lesiones tempranas, las cuales aparecen normalmente en la piel, hay una colección de pequeños e irregulares espacios delineados por células endoteliales los cuales rodean los vasos sanguíneos normales de la piel. Esto se acompaña por un infiltrado inflamatorio de linfocitos que es variable, lo cual se conoce como estadio de parche. Esto se ve seguido por un proceso de expansión de los procesos vasculares de células ahusadas a través de la dermis. Estas células ahusadas forman canales vasculares que contienen eritrocitos (estadio de placa). En el estadio nodular las lesiones se componen de sábanas de células ahusadas algunas de las cuales presentan mitosis y espacios vasculares con áreas de pigmento de hemosiderina. Se cree que las células ahusadas que forman el cuerpo de las lesiones de SK establecidas, representan el componente neoplásico, pero aún hay alguna controversia acerca de su histogénesis (origen de un tejido o de una célula). A pesar de que la mayoría de las células ahusadas tiñen positivamente para los marcadores endoteliales, algunas expresan proteínas específicas del músculo liso, macrófagos y células dendríticas y algunas expresan simultáneamente los determinantes antigénicos característicos de diversos tipos celulares. Esto sugiere que las células ahusadas del SK pueden derivarse de una célula progenitora mesenquimatosa pluripotencial ⁽¹⁵⁾ lo cual es sugerido por la presencia de alfa-actina, el cual es un marcador para músculo liso y por la positividad compartida para los marcadores de células hematopoyéticas CD34 y CD18 ⁽²³⁾.

No solo el origen de estas células ahusadas es controversial sino también si estas son derivadas clonalmente o si proliferan policlonalmente en respuesta a citoquinas locales. La presentación clínica y la patología inicial del SK indica una hiperplasia policlonal y esto puede desarrollar una verdadera malignidad clonal a medida que la lesión progresa. En particular el SK asociado a SIDA con lesiones

diseminadas en varios órganos internos incluyendo el pulmón, el intestino y el bazo recuerda un cáncer metastático ⁽²⁾.

Inmunohistoquímicamente las células ahusadas son de alguna manera similares a las células endoteliales debido a que se tiñen con Ulex europeus y son negativas a las tinciones con factor VIII y EN-4 ⁽²⁴⁾.

El aumento en el número de pacientes con SK asociado a SIDA durante los últimos años ha hecho posible estudiar los cambios histopatológicos del SK en relación con la progresión clínica. A medida que el tumor clínico se desarrolla a partir de un estadio de preparche a parche, placa, nodular y tumoral, las características histológicas progresan. En el estadio temprano de parche las características histológicas incluyen un leve aumento en el número de espacios delimitados por células endoteliales de formas bizarras y un infiltrado celular mononuclear compuesto por linfocitos y células plasmáticas

Las cuales se ven en las áreas perivasculares. A medida que la enfermedad progresa al estadio de placa, el número de vasos de forma irregular y el infiltrado inflamatorio aumentan y los grupos de células ahusadas aparecen entre los haces de fibras colágenas.

Durante el estadio nodular la apariencia histológica consiste de pocos y delgados canales vasculares delineados por células endoteliales en una matriz densa de células ahusadas. El infiltrado mononuclear es ausente o muy escaso, pero hay presencia de eritrocitos extravasados y pigmento de hemosiderina. La histopatológica del SK en las vísceras y en los nódulos linfáticos es similar a la vista en piel ^(1,15).

1.4.2.6 DIAGNOSTICO DEL SARCOMA DE KAPOSÍ

Si bien en la actualidad los investigadores pueden detectar el VHSK en las muestras de sangre, no existe ninguna prueba de rutina que puedan efectuar los proveedores de atención médica. Aunque estas pruebas estuvieran ampliamente disponibles, es importante recordar que estar infectado con el VHSK no implica que se desarrollará el SK, incluso aunque el sistema inmunológico esté debilitado.

Las lesiones cutáneas del SK suelen diagnosticarse mediante una biopsia. Para realizar una biopsia, el proveedor de atención médica (ya sea un doctor de atención primaria, un oncólogo, un dermatólogo o un cirujano) toma una pequeña muestra de la lesión y la envía al laboratorio para que la examinen. El informe del laboratorio determinará el tipo de tumor.

Para diagnosticar el SK pulmonar, se introduce un tubo delgado (llamado broncoscopio) por la tráquea, hasta los pulmones, para determinar si hay lesiones. Para saber si existe SK pulmonar también se pueden hacer radiografías.

El SK gastrointestinal suele diagnosticarse mediante una endoscopia, que se realiza introduciendo un tubo delgado por la garganta o el recto. El SK gastrointestinal tiene un aspecto muy particular, en consecuencia no suele ser necesario recurrir a una biopsia.

1.4.2.7 CLASIFICACIÓN DEL SK

El Sarcoma de Kaposi es clasificado de las siguientes formas:

- El SK clásico

El profesor Moriz Kaposi Kohn, un dermatólogo húngaro, reportó la existencia del SK en 1872. Esta clase de SK se desarrolla de una manera relativamente lenta, manifestándose sobre las piernas o los pies y afectando en su mayoría a hombres de entre 50 a 70 años con descendencia italiana (mediterráneos) o del este de Europa (judíos Ashkenzaicos).

- El SK Africano

En los 1960S, se reconoció que 9% de todos los tumores diagnosticados entre hombres procedentes del Africa ecuatorial eran del SK. Esta forma del SK no está relacionada con el VIH y el SIDA puede desarrollarse lentamente como el SK clásico o puede resultar más agresivo, y hasta mortal, particularmente entre aquellos menores de 25 años de edad.

- El SK de transplante

Se les administran fármacos inmunosupresivos a los pacientes que reciben un transplante de órgano para ayudar a prevenir el rechazo corporal del tejido transplantado. En 1969 se documentó el primer caso del SK en un paciente que recibió un transplante de riñón; desde entonces, se han reportado otros casos parecidos. Esta clase de SK también se manifiesta entre los pacientes que reciben otros tipos de trasplantes y entre aquellos que toman fármacos de esteroides inmunosupresivos para tratar contra otras condiciones. En algunos de estos pacientes el SK se torna latente al discontinuar o reducir el tratamiento inmunosupresivo.

- El SK del SIDA

Entre 1992 y 1994 se han reportado más de 11000 casos del SK del SIDA entre los adultos estadounidenses. Los CDC estiman que el número podría ser mayor, llegando hasta más de 15000 casos durante estos tres años. El SK es la causa principal de la mortalidad entre aproximadamente 10 a 12% de las personas con el SIDA.

1.4.2.8 INMUNOLOGIA DEL SIDA

Las consecuencias clínicas de la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) obedecen a la capacidad de este agente de alterar el sistema inmunitario del huésped, lo cual puede lograr porque su principal blanco es el subgrupo de linfocitos auxiliares e inductores. Dicho subgrupo que se define por su expresión molecular CD4+ en la superficie funge como organizador básico de miles de funciones inmunitarias. Por consiguiente cabe considerar, la infección por VIH como una enfermedad del sistema inmunitario que se caracteriza por la pérdida de linfocitos CD4+ con consecuencias finalmente letales para el huésped infectado.

A pesar de esta inmunosupresión que se induce al VIH, las personas infectadas generan una serie de defensas inmunitarias específicas contra el virus que quizás contribuyan a la fase sintomática prolongada después de la infección, por cuanto contienen al virus, por lo menos en forma parcial. La comprobación reciente en modelos de animales con SIDA en que estos logran un estado de inmunidad protectora inducida por una vacuna contra retrovirus relacionados con VIH, y la identificación de personas infectadas que mantienen el control de la viremia por VIH-1 sin recibir farmacoterapia destacan la importancia potencial de las defensas mencionadas. Conocer la inmunológica que guarda relación con el VIH no solo

proporciona información sobre las secuelas clínicas de la infección, sino también del desarrollo de una vacuna eficaz contra dicho virus.

1.4.2.9 EPIDEMIOLOGIA Y PATOGENESIS

En 1994 se descubrió que el virus humano herpes 8 (HHV8) se encontraba en las lesiones de sarcoma de kaposi ⁽²⁸⁾. El HHV8 se encuentran en las cedulas endoteliales de todos los tipos de sarcoma de kaposi, incluyendo la variante clásica, la endémica, la asociada a trasplantes y la asociada a SIDA. El virus también puede ser encontrado en las células mononucleares de sangre periférica en la mayoría de pacientes con sarcoma de kaposi, este aspecto con cierta frecuencia precede al desarrollo del sarcoma de kaposi en los pacientes con SIDA (32,33).

El HHV-8 también se asocia con enfermedades linfoproliferativas raras que se ven con mayor frecuencia en personas infectadas con VIH, como por ejemplo la enfermedad de Castleman y una nueva variedad de linfomas no Hodking conocida como linfoma de efusión. La manera mediante la cual este virus es transmitido se desconoce. Se ha detectado tanto en el semen como en el tejido prostático.

La patogénesis del sarcoma de kaposi es compleja, teniendo varias putativas las cuales incluyen el HHV-8, el VIH, citoquinas, integrinas, alteración en la apoptosis y alteración en el control de los ciclos celulares. Alguna evidencia sugiere que el sarcoma de kaposi es un proceso monoclonal, sin embargo en algunos otros casos puede ser un proceso proliferativo policlonal, especialmente en sus fases iniciales. Las citoquinas liberadas de las cedulas fusiformes y las células inflamatorias estimulan el crecimiento de los tumores.

La célula de origen del SK se ha mantenido en vilo durante muchas décadas. Se han sugerido varios tipos de células, sin embargo la inmunohistoquímica, los cultivos y la microscopía electrónica han arrojado resultados controvertidos ⁽¹⁶⁾. Se cree que la célula infectada primariamente con el HHV8 puede ser el linfocito CD19+ o CD22+, el cual puede servir como transportador del HHV8 a la célula endotelial ⁽²⁵⁾.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia del virus herpes 8 (VHH-8) en pacientes con Sarcoma de Kaposi que padecen inmunodeficiencia adquirida del Hospital Simón Bolívar de Bogota.

1.5.2 OBJETIVO ESPECIFICO

- Identificar los factores sociodemográficos de los pacientes con Sarcoma de Kaposi en el hospital Simón Bolívar de Bogotá.
- Establecer la presencia del virus herpes tipo 8 (VHH-8) en pacientes con Sarcoma de Kaposi.

2. ASPECTOS METODOLOGICOS

2.1 TIPO DE ESTUDIO

El tipo de estudio a realizar es descriptivo transversal.

2.2 OBJETO DE ESTUDIO

Relación del Virus herpes 8 (VHH-8) con el Sarcoma de Kaposi.

2.3 POBLACION OBJETO

Muestras en bloque de parafina de pacientes con Sarcoma de Kaposi VIH positivos.

2.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN

2.4.1 CRITERIOS DE INCLUSION

- Muestras de pacientes con VIH y sarcoma de Kaposi homosexuales y bisexuales mayores de edad.
- Muestras en bloque con diagnostico de Sarcoma de Kaposi ya establecido.

2.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSION

- Muestras con diagnostico diferente a Sarcoma de Kaposi
- Menores de edad

2.5. INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS.

2.5.1 INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS CLINICOS

DETECCION DEL VIRUS HERPES 8 (VHH-8) MEDIANTE LA PRUEBA DE PCR
EN MUESTRAS DEL SARCOMA DE KAPOSI DE PACIENTES VIH POSITIVOS
DEL HOSPITAL SIMON BOLIVAR DE BOGOTA.
COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia del virus herpes 8 (VHH-8) en pacientes con Sarcoma de Kaposi que padecen inmunodeficiencia adquirida del Hospital Simón Bolívar de Bogota.

NUMERO _____

Edad _____ Años

Estado civil

S	C	V	SP
---	---	---	----

Estrato Socioeconómico

1	2	3	4	5	6
---	---	---	---	---	---

Preferencia sexual

HOMOSEXUAL	
HETEROSEXUAL	
BISEXUAL	

Estadio De Enfermedad

I	II	III	IV
---	----	-----	----

Localización De Las

Lesiones Encontradas

Lengua		Paladar duro	
mucosa lingual		carrillos	
paladar blando		labios	
piso de boca		otras partes	
mucosa vestibular			

Otra localización de la lesión: _____

Numero De Lesiones Presentes En Boca _____

Operador _____

Hora _____ Fecha _____

2.5.2 INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS DE LABORATORIO

DETECCION DEL VIRUS HERPES 8 (VHH-8) MEDIANTE LA PRUEBA DE PCR
EN MUESTRAS DEL SARCOMA DE KAPOSÍ DE PACIENTES VIH POSITIVOS
DEL HOSPITAL SIMÓN BOLÍVAR DE BOGOTÁ.
COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia del virus herpes 8 (VHH-8) en pacientes con Sarcoma de Kaposi que padecen inmunodeficiencia adquirida del Hospital Simón Bolívar de Bogotá

PRESENCIA DE VHH-8

PRESENCIA	
AUSENCIA	

Operador _____

Fecha _____ Hora: _____

2.6 PROCEDIMIENTO

2.6.1 PRESENTACION DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACION

Se realizó previa presentación del protocolo de investigación al comité de ética e investigaciones científicas de la ESE Hospital Simón Bolívar de Bogotá el cual el cual fue aprobado mediante el acta N° 23.

2.6.2 SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Se asistió a consulta dermatología, se reviso el registro de patología del cual se saco la información de los 25 pacientes a los cuales se les había realizado la biopsia la cual arrojo un diagnostico SK.

Se radicaron dos oficios uno para solicitud de muestras en bloque de parafina las cuales estaban almacenadas en una bodega, rotuladas por fecha de realización de la biopsia, en el laboratorio de patología del Hospital; y el otro oficio dirigido a la coordinación de archivos para la revisión de historias clínicas, las cuales coincidían con los números de registro de los bloques de parafina, dichas historias fueron revisadas y la información de cada paciente fue consignada en el instrumento de recolección de datos clínicos.

Los 25 bloques de parafina fueron llevados al laboratorio de virológica de la universidad de El Bosque de Bogotá, los cuales fueron desparafinados con el fin obtener solo la muestra del SK siguiendo un protocolo para la extracción de DNA en bloques de parafina.⁽³⁾ Tomando dos secciones de 15 μm a partir de bloques parafinados por medio de un micrótopo y se colocaron en un tubo de 1.5 ml

2.6.3 PRUEBAS DE LABORATORIO

2.6.3.1 EXTRACCIÓN DE DNA

Se adicionó 1 ml de xilol, se mezcló por inversión e incubó a 55 °C por 15 minutos. Se llevó centrifugar a 14000 rpm durante 5 minutos y se descartó el sobrenadante repitiendo el procedimiento, luego se adicionó etanol al 100% 90% 80% y 70% e incubó por 15 minutos a 55°C para centrifugar a 14000 rpm por 5 minutos y descartar posteriormente el sobrenadante (se repitió este proceso entre cada

porcentaje de Etanol), se secó el pellet al aire por 15 minutos y se adicionó 1 mg/ml de proteinasa K en 500 μl buffer de digestión. Se incubó toda la noche en agitación a 55°C con proteinasa K (1 mg/ml) se repitió este paso hasta obtener una solución acuosa, de color transparente.

2.6.3.2 PURIFICACION DE ADN

Se adicionó un volumen igual de Fenol/Cloroformo/Alcohol Isoamílico (25:24:1) a la solución acuosa obtenida por digestión con proteinasa K. para Centrifugar a 6500 rpm por 10 minutos. Y remover la fase acuosa a un tubo de 1.5 ml nuevo y estéril.

2.6.3.3 PRECIPITACION DEL ADN

Se agregaron 3 volúmenes de etanol al 100 % (Frío) a la solución de reacción y 1/10 de Acetato de Sodio 3 M al volumen final de la solución. para mmezclar por vórtex e Incubar por 1 hora a -70° . Se centrifugó a 14000 rpm por 15 minutos y posteriormente descartar el sobrenadante se lavó con 500 μ l de etanol al 70%. Y centrifugó a 14000 rpm por 10 minutos nuevamente se Descartó el sobrenadante y se dejó secar completamente se resuspendió en -50 μ l en agua grado I estéril y se almacenó a -20°C .

2.6.3.4. SELECCIÓN DE LOS PRIMERS

Una vez el ADN se encuentra puro y en condiciones de procesar, se realiza el diseño y selección de los primers, se tomó como referencia una publicación de sociedad Americana de Investigaciones de patología y la asociación de patología Molecular. ⁽⁴⁾ en donde 31 muestras de DNA fueron recuperadas del banco del laboratorio molecular de patología, departamento de DNA de patología,

universidad médica de Weill de la universidad de Cornell, en dicha publicación se realizaron pruebas de PCR para detectar VHH-8 en muestras de Sarcoma de Kaposi mediante la utilización de diferentes Primers con el fin de seleccionar y unificar los primers mas confiables en la detección del VHH-8 estos fueron ORF-

26in que amplia secuencias de ADN de 136 pares de bases (pb) y ORFK9-3 que amplia secuencias de 184 pb.

2.6.3.5 PRUEBA DE PCR

Una vez obtenido y purificado el DNA de cada muestra de Sarcoma de Kaposi y seleccionados los PRIMERS se realizaron dos pruebas de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) una para la enzima GAPDH que participa en el metabolismo de la glucosa en todas las células humanas y se utiliza como prueba de control para determinar las condiciones del DNA que se extrajo de cada muestra y de esta manera poder realizar la prueba de PCR específica para determinar la presencia o ausencia del virus la cual hace uso de los PRIMERS seleccionados.

Para la PCR se utilizan dos oligonucleótidos sintéticos de unos 15-20 nucleótidos que son complementarios a las zonas flaqueantes de la región que se desea ampliar. Estos oligonucleótidos (PRIMERS) actúan como cebadores para la síntesis in Vitro de ADN la cual esta habitualmente catalizada por una enzima llamada Taq polimerasa. Dicha enzima se aísla de una bacteria termofila, denominada *Thermus Aquaticus*, que es capaz de crecer a temperaturas elevadas (79° 85° C) a esta temperatura dicha enzima es capaz de mantener una medida de extensión de mas de 60 nucleótidos por segundo en regiones ricas en uniones G-C. La temperatura optima a la que actúa la Taq polimerasa permite el uso de elevadas temperaturas para la unión de los primers y para la extensión, de esta manera se aumenta el nivel de exigencia de la reacción y se reduce la extensión de los primers unidos inespecíficamente al ADN.

Desnaturalización

Para que comience la reacción es necesario que el ADN molde se encuentre en forma de cadena sencilla. Esto se consigue aplicando temperaturas de 90° a 95° que producen la rotura de los puentes de hidrogeno intercatenaricos y por lo tanto

la separación de ambas cadenas. Para conseguir la completa separación de las hebras de toda la muestra esta temperatura debe mantenerse unos minutos. Si el ADN solo se desnaturaliza parcialmente éste tenderá a renaturalizarse rápidamente, evitando así una eficiente hibridación de los primers y una posterior extensión.

Hibridación esta fase se denomina también fase de "annealing" o de emparejamiento. Una vez que el ADN está desnaturalizado se disminuye la temperatura hasta un rango comprendido entre los 40 y los 60°C para que se pueda producir la unión de los primers a las secuencias flaqueantes del fragmento que se va a ampliar. La temperatura de fusión o annealing (T_m , "meeting temperatura) dependen de varios factores y es relativamente específica para cada primer. La longitud de los primers y la secuencia son críticas en la designación de los parámetros de una amplificación, una fórmula simple para calcular es. $T_n = 4(G+C) + 2(A+T)$

No obstante, cada primer exige una serie de estudios experimentales para determinar su temperatura de annealing específica ya que si la temperatura es muy baja la unión se hará de forma inespecífica y si es muy alta no se producirá una unión completa.

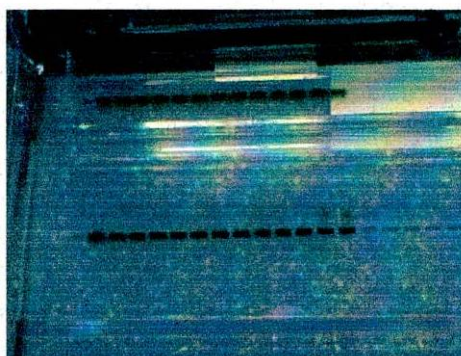
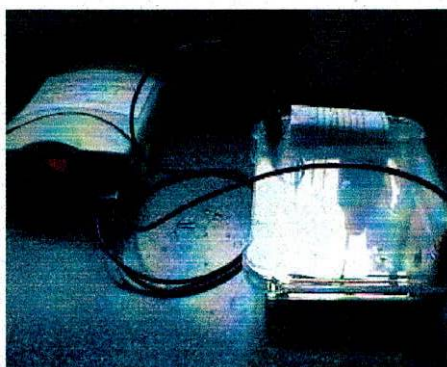
Extensión durante este paso la taq polimerasa incorpora nucleótidos en el extremo 3' del primer utilizando como molde la cadena de ADN previamente desnaturalizada. La temperatura a la que se lleva a cabo este paso suele ser de 72° C ya que es la temperatura a la que la taq polimerasa alcanza su máxima actividad Normalmente una extensión de 20 segundos es suficiente para fragmentos menores de 500 pb, y 40 segundos por encima de 1.2 kb.

Un factor importante en el transcurso de las diferentes fases es el tiempo de rampa, es decir, el tiempo invertido en pasar de una temperatura a otra y depende

del diseño y de las características del aparato donde se realiza automáticamente este proceso, el termociclador.

Después de realizar cada una de las pruebas, los resultados deben ser analizados por electroforesis que es una técnica para la separación de moléculas (proteínas o ácidos nucleicos) sobre la base de su tamaño molecular y carga eléctrica, para la separación se usa un gel de agarosa al 2%. Al poner la mezcla de moléculas y aplicar un campo eléctrico, éstas se moverán y deberán ir pasando por la malla, por la que las pequeñas se moverán mejor, más rápidamente. Así, las más pequeñas avanzarán más y las más grandes quedarán cerca del lugar de partida.

Fig 1. Equipo de electroforesis y Siembra de los pozos en el gel de agarosa al 2%



En cada pozo se sembró 10 microlitos de ADN, 2 microlitros de buffer 6X (el cual da peso molecular a la solución y tiene colorante) y un marcador de peso molecular.

Entre las muestras se coloca una negativa como control para garantizar la confiabilidad de la prueba esta muestra negativa se localiza en el pozo cinco de cada prueba, se conecta la maquina de electroforesis se deja correr durante 1 hora a 80 Voltios.

Una vez el tiempo requerido se cumple se procede a hacer la lectura de los resultados colocando el gel de agarosa en una planta de luz ultravioleta

Fig. 3 Lectura en luz ultravioleta y Lectura de la prueba de control GAPDH

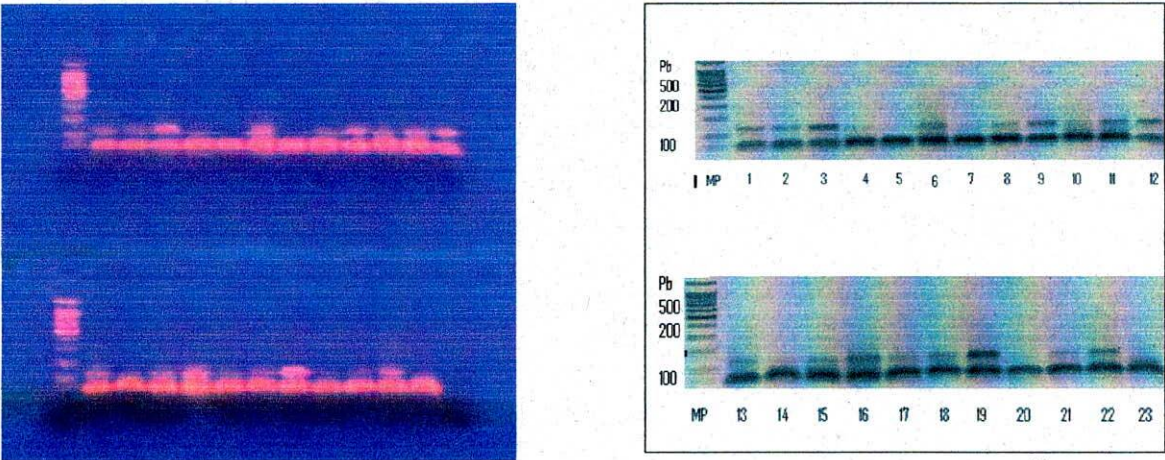
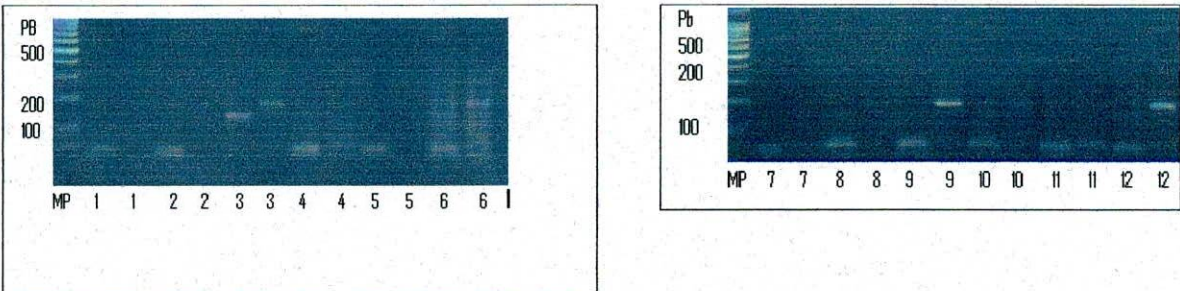


Fig. 4 Lectura de la PCR específica

Para la lectura de la PCR específica se sembraron dos pozos por cada muestra, el primer pozo hace referencia a la prueba con el Primer ORF26-in y el segundo para el ORF9-3.



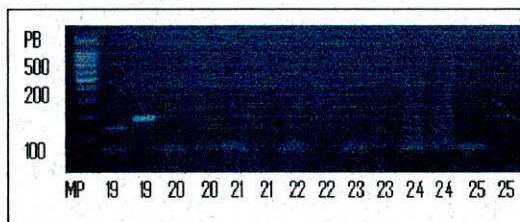
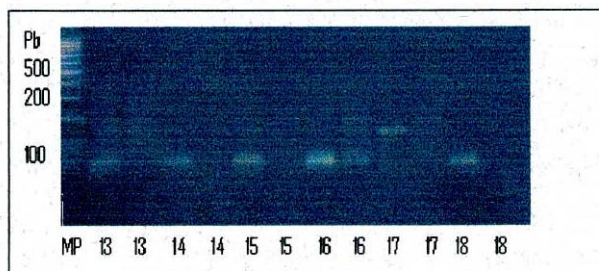


Tabla 1 Resultados de pruebas de PCR

NUME	PRIMERS TAMAÑO DE AMPLIFICACION			PRESENCIA DE VHH-8
	GAPDH 124 Pb	ORF26IN 136 Pb	ORFK9-3 184PB	
1	++	-	+	+
2	+	-	-	-
3	+++	+++	++	+
4	+	-	+	+
5	-	-	-	-
6	++	-	++	+
7	-	-	-	-
8	++	-	+	+
9	+++	-	+++	+
10	+	-	+	+
11	+++	-	-	-
12	+++	+	+++	+
13	+	-	-	-
14	-	-	-	-
15	+	-	-	-

16	++	-	+	+
17	+	++	+	+
18	+	-	-	-
19	+++	++	+++	+
20	+	-	-	-
21	+	-	-	-
22	++	-	-	-
23	-	-	-	-
24	-	-	-	-
25	+++	-	+	+

Después de realizar cada una de las pruebas, los resultados deben ser analizados por electroforesis que es una técnica para la separación de moléculas (proteínas o ácidos nucleicos) sobre la base de su tamaño molecular y carga eléctrica, para la separación se usa un gel de agarosa al 2%. Al poner la mezcla de moléculas y aplicar un campo eléctrico, éstas se moverán y deberán ir pasando por la malla, por la que las pequeñas se moverán mejor, más rápidamente. Así, las más pequeñas avanzarán más y las más grandes quedarán cerca del lugar de partida este proceso se dejó correr durante 1 hora a 80 Voltios, Una vez el tiempo requerido se cumple se procede a hacer la lectura de los resultados colocando el gel de agarosa en una planta de luz ultravioleta.

Una vez obtenidos los resultados de laboratorio de cada muestra se procedió al diligenciamiento del instrumento de recolección de datos de laboratorio.

2.7 TABULACION Y ANALISIS DE DATOS

Los resultados obtenidos se tabularon en Excel y se interpretaron y analizaron mediante el programa estadístico SPSS versión 12 que realizó una estadística

descriptiva de cada una de las variables, también se efectuaron los análisis divariados mediante los cuales se realizó el cruce de variables.

3. ANALISIS ESTADISTICO

3.1 RESULTADOS

La muestra fue compuesta por 25 pacientes VIH positivos con edad promedio de 36.32 +/- 6.12 años, (rango de 27 a 48 años).

GRAFICO1: ESTRATO SOCIOECONOMICO DE LOS PACIENTES CON SARCOMA DE KAPOSÍ VIH POSITIVOS DE LA ESE HOSPITAL SIMÓN BOLÍVAR DE BOGOTÁ

El estrato predominante es el 2 con el 60% de los pacientes, seguido del 3 por el 24% y el 1 con el 16%.

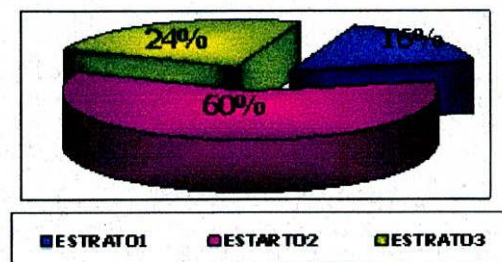


GRAFICO 2: ESTADO CIVIL DE LOS PACIENTES CON SARCOMA DE KAPOSÍ VIH POSITIVOS DE LA ESE HOSPITAL SIMÓN BOLÍVAR DE BOGOTÁ

El 96% de los pacientes son solteros y solo el 4% viudos.

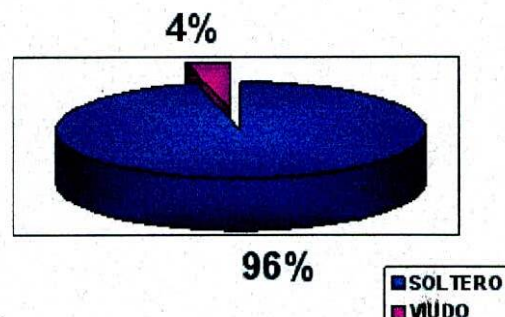


GRAFICO 3: ESTADIO DE LA ENFERMEDAD DE LOS PACIENTES CON SARCOMA DE KAPOSÍ VIH POSITIVOS DE LA ESE HOSPITAL SIMÓN BOLÍVAR DE BOGOTÁ

El estadio de la enfermedad en el 40% de los pacientes es III, es IV en el 36% de ellos y II en el 16%, solo en el 8% e estadio estadio es I.

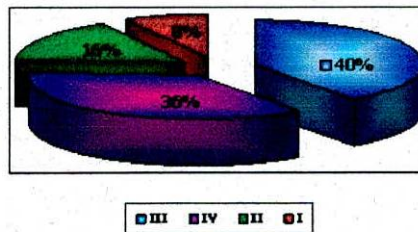
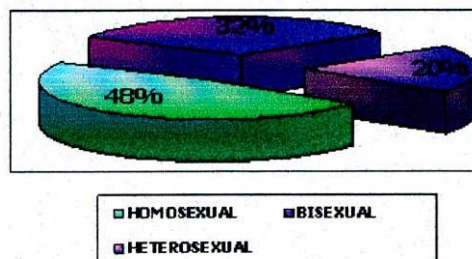


GRAFICO 4 TENDENCIA SEXUAL DE LOS PACIENTES CON SARCOMA DE KAPOSÍ VIH POSITIVOS DE LA ESE HOSPITAL SIMÓN BOLÍVAR DE BOGOTÁ
El 48% son homosexuales, el 32% bisexuales y el 20% heterosexuales.



En promedio los pacientes tienen 3.72 lesiones, las cuales se presentan en un rango de 1 a 9. El número de lesiones más frecuente es "1" presentada por el 24% de los pacientes, el 20% presentan 3 y 6 lesiones y el 12% 4 lesiones.



Se encuentran significativamente correlacionados numero de lesiones y localización de la lesión (66.2%) y numero de lesiones con estadio de la enfermedad (53.5%)

DISCUSIÓN

De acuerdo al estudio retrospectivo, realizado por Ilan Lager , y col. De Oral and maxillofacial pathology se encontró que la mayoría de los pacientes estaban en la tercera (27%) o cuarta (44%) década de vida, según la relación de genero asociado al estudio fue de 46 hombre y 35 mujeres afectados y los sitios intraorales mas frecuentemente afectados fueron el paladar (37 pacientes), la lengua (20 pacientes) y la encía (20 pacientes).

En nuestro estudio la edad promedio fue de 36.32 +/- 6.12 años (segunda y cuarta década de vida), la muestra total fue en un 100% comprendida por hombres, en los que la localización mas frecuente de las lesiones al igual que el estudio en mención fue en paladar duro.

Según Robert Yarchoan, M. D en su publicación The New England Journald of medicine del 2007 afirme que las células del sarcoma de kaposi se encuentran siempre infectadas por el VHH-8 sin embargo en nuestra investigación encontramos que este tipo virus estuvo presente solo en el 48% de las muestras de Sarcoma de kaposi analizadas.

CONCLUSIONES

Relacionar los factores sociodemográficos con el objeto de estudio fue de gran importancia ya que permitió una globalización más certera en la Población del VIH que maneja la ESE Hospital Simón Bolívar de la ciudad de Bogotá.

El estrato socioeconómico 2 los pacientes solteros y homosexuales de la ESE Hospital Simón Bolívar de la ciudad de Bogotá presentan mayor incidencia de Sarcoma kaposi.

Solo el 48% de los pacientes VIH positivos con diagnostico de Sarcoma de Kaposi presentan VHH-8 existe la probabilidad de que el virus no se encontrara en algunas de las muestras debido a la terapia antirretroviral.

RECOMENDACIONES

Iniciar líneas de investigación alternas y complementarias a esta investigación, con el fin de determinar los factores y causas que inciden en la presencia o ausencia del virus herpes tipo 8 (VHH-8) en el Sarcoma de Kaposi que presentan los pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) en la ESE Hospital Simón Bolívar de la ciudad de Bogotá que presenta una línea abierta par investigaciones que aporten información de importancia a este tema de Inmunodeficiencia Humana Adquirida (SIDA).

BIBLIOGRAFIA

1. CHRIS BOSHOF AND ROBIN WEISS. (1997) Aetiology of Kaposi's Sarcoma: current understanding and implications for therapy; Molecular Medicine Today, Novembre
2. CHANG ET. AL.(1994) Identification of herpes virus-like sequences in AIDS asociated Kaposi's sarcoma; Science ; 266:1865-1869
3. Martinez C, Jiménez G, Castellanos J,Aporte del laboratorio en el diagnostico postmorten de un caso fulminante de neumonía por virus Varicela Zoster. Acta de biología Colombiana facultada de Ciencias departamento Biología U nacional Vol 11 N- 2 2006
4. Langxing Pan y col Polymerase Chain Reaction Detection of Kaposi's Sarcoma Associated Herpesvirus-Optimized Protocols and Their Application to Myeloma,Journal of Molecular Diagnostics, Vol. 3, No. 1, February 2001Copyright © American Society for Investigative Pathology and the Association for Molecular Pathology
5. MURPHY, ARMSTRONG, SEPKOWITZ, AHKAMI MYSKOWSKI,(1997) Regression of AIDS related Kaposi's sarcoma following treatment with an HIV-1 protease inhibitor; AIDS ;11:2
6. LEVY. (1997)Three new human herpes viruses (HHV 6,7 and 8) LANCET 349:558-62.

7. VINCENT DE VITA JR, SAMUEL HELLMAN, STEVEN ROSENBERG, AIDS Etiology, Diagnosis, Treatment and prevention; Third edición, J.B. Lippincott Company
8. SCHMID-DS; (1998) Role of HHV8 in Kaposi Sarcoma: abstract and comentary; JAMA, ; 280(6), 570-71
9. AMBROZIAK J., BLACKBURN, D. HERNDIER B. ET AL; (1995) Herpes virus like sequences in HIV-infected and uninfected Kaposi Sarcoma paciente. SCIENCE ; 268:582-583
10. WHITBY D, HOWARD M, TENANT- FLOWERS M, ET AL.; (1995) Detection of Kaposi Sarcoma associated herpes virus in peripheral blood of HIV infected individuals and progression to Kaposi Sarcoma; LANCET,; 346: 799-802.
11. CESARMAN, CHANG, MOORE, SAID, KNOWLES; (1995) Kaposi's associates Herpes Virus like DNA Sequences in AIDS related body cavities based lymphomas; The New England Journal Of Medicine; 332;18:1186-1191.
12. HUDNAL, RADY, TYRING, FISH; (1999) Hydrocortisone activation of HHV8 viral DNA replication and gene expression in vitro; Transplantation; 67(5):648-652
13. BRODT; KAMP, HELM, SCHOFFER, MITROU; (1998) kaposi's Sarcoma in HIV infection: Impact on oppportunistic infections and survival; AIDS ; 12(12):1475-81
14. BERALV, PETERMA T, BERKELMAN R, ET AL; (1990) Kaposi's Sarcoma among persons with AIDS: A sexually transmiited infection?; LANCET ; 335:123-127

15. ENSOLI, NAKAMURA, SALAHUDDIN ET AL;(1989) AIDS-Kaposi's Sarcoma derived cells express cytokines with autocrine and paracrine growth effects. SCIENCE ; 243: 223-6
16. SIMONART, DESGRAEF, NOEL, FOKAN, ZNOV, PRADIER, DURARME; (1998) Overexpression of BCL-2 in Kaposi's Sarcoma derived cells. Journal Invest – Dermatol ; 111(3): 349-53
17. SALAHUDDIN, NAKAMURA, BIBERFELD ET AL; (1988)Angiogenic Properties of Kaposi's Sarcoma derived cells after long-term culture in vivo; SCIENCE ; 242:430-33
18. RETZEL EF, STASKUS KA, EMBRETSON JE, HAASE AT, Amplification and detection in a cellular context; department of microbiology, University of Minnesota, Minneapolis, MN 55455
19. FRIEDMAN-KEIN A, LAUBENSTEIN L, MARMOR M, ET AL.(1981) Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men. MMWR ; 30:305.
20. GALLANT JE, MOORE RD, RICHMAN DD, ET AL. (1994) Risk factor for Kaposi's sarcoma in patients with advanced human immunodeficiency virus disease treated with zidovudine: Zidovudine epidemiology study. Arch Intern Med ; 154:566-572.
21. WEICH HA, SALAHUDDIN SZ, GILL P, ET AL.(1991) AIDS associated Kaposi's sarcoma-derived cells in long term culture express and synthesize smooth muscle alpha-actin. Am J pathol ;139:1251-1258.

22. ENSOLI B, GALLO RC: (1995) AIDS-associated Kaposi's sarcoma: A new perspective of its pathogenesis and treatment. *Proc Assoc Am Physicians* ;107:8-18.
23. LI JJ, FRIEDMAN-KIEN AE, HUANG YQ, ET AL(1996). Detection of HHV-8 in subsets of blood cells from patients with AIDS-related Kaposi's sarcoma. In: program and abstracts of the XI International Conference on AIDS; July 7-12, , Vancouver, Canada
24. MILES SA: (1994) Pathogenesis of HIV-related Kaposi's sarcoma. *Curr Opin Oncol* 6:497-502.
25. ENSOLI B, BARILLARI G, GALLO RC: (1992) Cytokines and growth factors in the pathogenesis of AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Immunol Rev* 127:147-155
26. MILES SA (1996) Pathogenesis of AIDS-related Kaposi's sarcoma. Evidence of a viral etiology. *Hematol Oncol Clin North Am* ; 10:1011-1021.
27. HUANG YQ, LI JJ, KIM KS, ET AL.(1993) HIV-1 infection and modulation of cytokine and growth factor expression in Kaposi's sarcoma derived cells in vitro. *AIDS* ;7:317-22.
28. ENSOLI B, NAKAMURA S, SALUHUDDIN SZ, ET AL.(1989) AIDS-Kaposi's sarcoma derived cells express cytokines with autocrine and paracrine growth effects. *Science* 243:223-226.
29. STURZL M, WILLI KR, BROCKMEYER NH, ET AL. (1989) Expression of PDGF and its receptor in AIDS-related KS in vivo suggests paracrine and autocrine mechanisms of tumor maintenance. *Proc Natl Acad Sci* ;89:7046-7050.

30. VOGEL J, HINRICHS SH, REYNOLDS RK, ET AL. (1988) The HIV tat gene induces dermal lesions resembling Kaposi's sarcoma in transgenic mice. Nature ;335:606-611.

31. BENNETT. Goldman. Tratado de Medicina Interna. Mc Graw Hill Interamericana. España. Ed. 21. Vol. II. 2002. Pag. 2082-2092, 2351-2115

32. CHANG Y, Cesarman E, y col. Identification of herpesvirus-like sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. California –Estados Unidos. 1994. Science 266:1865-69

33. LIN BTY, Chen YY, Battifora H, and Weiss LM. Absence of Kaposi's sarcoma associated herpesvirus like DNA sequences in malignant vascular tumors of
34. the serous membranes. 1996. Mod Pathol 9:1143-1146

35. LODISH. Harvey. BERK, Arnold. Biología Celular y Molecular. Editorial Medina S.A. Colombia. Ed. 4. 2003 pag. 246-248

36. LANSING. M. Prescott. HARLEY. Jhon. DONALD. Klein. Microbiología. Mc. Graw Hill Interamericana. Madrid- España. 1999 Ed. 4 Pág. 327-328, 772-779

37. Revista Panamericana de Salud Pública. Seroprevalencia del herpes virus asociado con el sarcoma de kaposi en diversas poblaciones en Cuba. Editorial Boarol. Vol. 15 No.5. Mayo-2004 Pág. 320-325.

38. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. Human papillomavirus, type 40- associated papilloma, and concurrent Kaposi's sarcoma involving the anterior hard palate of an HIV- positive man. 2003; 95:80-4