

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ILMD INSTITUTO LEÔNIDAS
& MARIA DEANE
Fiocruz Amazônia

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ
INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE – ILMD
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM BIOLOGIA DA
INTERAÇÃO PATÓGENO HOSPEDEIRO

DANIEL SILVA DOS SANTOS

ALTERAÇÕES PLAQUETÁRIAS EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS
INTERNADOS NA FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DOUTOR
HEITOR VIEIRA DOURADO

MANAUS – AM

2022



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ILMD

INSTITUTO LEÔNIDAS
& MARIA DEANE
Fiocruz Amazônia

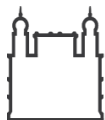
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ
INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE – ILMD
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM BIOLOGIA DA
INTERAÇÃO PATÓGENO HOSPEDEIRO

DANIEL SILVA DOS SANTOS

ALTERAÇÕES PLAQUETÁRIAS EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS
INTERNADOS NA FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DOUTOR
HEITOR VIEIRA DOURADO

MANAUS – AM

2022



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ILMD INSTITUTO LEÔNIDAS
& MARIA DEANE
Fiocruz Amazônia

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ
INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE – ILMD
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM BIOLOGIA DA
INTERAÇÃO PATÓGENO HOSPEDEIRO

DANIEL SILVA DOS SANTOS

ALTERAÇÕES PLAQUETÁRIAS EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS
INTERNADOS NA FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DOUTOR
HEITOR VIEIRA DOURADO

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Interação Patógeno Hospedeiro, como requisito parcial e obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Ciências, área de concentração Bioquímica, biologia celular e molecular de patógenos e seus vetores.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Paulo Afonso Nogueira

MANAUS – AM

2022

FICHA CATALOGRÁFICA*

S237a

Santos, Daniel Silva dos

Alterações plaquetárias em pessoas vivendo com HIV/AIDS internados na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado. / Daniel Silva dos Santos. – Manaus: Instituto Leônidas e Maria Deane, 2022.

81 f.

Dissertação (Mestrado em Biologia da Interação Patógeno-Hospedeiro) – Instituto Leônidas e Maria Deane, 2022.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Afonso Nogueira.

1. HIV 2. Aids 3. Imunofenotipagem I. Título

CDU 616.98(043.3)

CDD 616.079

22. ed.

DANIEL SILVA DOS SANTOS

**ALTERAÇÕES PLAQUETÁRIAS EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS
INTERNADOS NA FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DOUTOR
HEITOR VIEIRA DOURADO**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Interação Patógeno Hospedeiro, como requisito parcial e obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Ciências, área de concentração Bioquímica, biologia celular e molecular de patógenos e seus vetores.

Aprovada em: 15/03/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Afonso Nogueira

Instituto Leônidas & Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

Prof. Dr. Wuelton Monteiro - Membro externo

Universidade do Estado do Amazonas e Fundação de Medicina Tropical – UEA/FMT

Prof.(a) Dr(a). Adele Benzaken - Membro interno

Instituto Leônidas & Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

À minha família e, principalmente, a Deus que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu criador, quem me soprou o fôlego de vida. Aquele que me ama apesar de todos os meus pecados, falhas, fracassos e medos.

A minha família, minha mãe Mirian que nunca me abandonou e, apesar do seu jeito único de me criar e ser, sempre me amou; a meu pai Ismael, que apesar dos nossos conflitos, me ajudou a construir cada degrau para que eu pudesse estar aqui hoje; a minha irmã Débora, minha companheira e àquela na qual eu confio; ao meu querido sobrinho Davi, que sempre ilumina os meus dias com seu jeito dócil e engraçado de ser.

A meu orientador Dr. Paulo Nogueira, que me orientou da melhor forma que pôde e esteve comigo durante esses dois últimos anos, apesar dos pesares.

A Thaís Pinto e Alexandre Neto, aqueles que eu chamo de porto seguro durante essa jornada onde o mar foi violento demais.

A Fundação de Medicina Tropical por fornecer os recursos necessários para o desenvolvimento da minha pesquisa.

Ao Instituto Leônidas e Maria Deane – Fiocruz Amazônia e o Programa de Pós-Graduação em Biologia da Interação Patógeno-Hospedeiro pela oportunidade de ingresso ao mestrado.

A FAPEAM pelo fornecimento da bolsa de estudos.

Aos demais que direta ou indiretamente fizeram parte deste processo.

“Eu não sou nada sem uma mão firme.”

Lady Gaga

RESUMO

A trombocitopenia crônica é um distúrbio hematológico comum em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e pode estar associada a uma variedade de anormalidades hemorrágicas, apesar de muitas vezes ser assintomática. Os mecanismos de base da trombocitopenia crônica no HIV incluem destruição acelerada de plaquetas periféricas e produção diminuída na medula óssea. O MPV e o PDW são índices plaquetométricos para avaliação da ativação plaquetária. O estudo avaliou os índices plaquetários e os níveis de ativação plaquetária aos desfechos clínicos de 44 pessoas vivendo com HIV/Aids (PVHIV) que foram internadas na FMT-HVD. Amostras de sangue foram obtidas no momento da admissão e em um segundo ponto entre 3º e 7º dia de internação. Os índices plaquetométricos foram determinados e o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) foi coletado para avaliação de plaquetas ativadas por citometria de fluxo com anticorpos anti-CD62, anti-CD41 e anti-CD42. Sete pacientes foram a óbito e nenhum das alterações plaquetárias foi associado ao desfecho. Em relação a trombocitopenia, o MPV foi estatisticamente menor entre os não trombocitopênicos, o PDW foi acima do normal em quase todos os pacientes, no entanto os trombocitopênicos tiveram elevação estatisticamente superior indicando maior ativação plaquetária. Apenas os pacientes trombocitopênicos tiveram correlações negativas de MPV e PDW com frequência de plaquetas imunofenotipadas pela citometria. Quando os pacientes foram classificados pela presença de pelo menos um critério de gravidade (necessidade de droga vasoativa, suporte ventilatório, UTI, hiperferritinemia (ferritina >1000), lactato desidrogenase >1000), aqueles com gravidade tiveram número médio de plaquetas reduzida (não necessariamente trombocitopenia) e a média de PDW foi estatisticamente maior que os sem gravidade. A trombocitopenia não foi característica de gravidade. As subpopulações de plaquetas ativadas (CD62+) reduziram ao durante a internação nos pacientes não trombocitopênicos e naqueles sem gravidade. Os achados sugerem que a elevação do MPV nos trombocitopênicos seria resposta compensatória da medula. Por outro lado, a ativação plaquetária parece ter um papel importante no monitoramento clínica durante a internação pois a exacerbação do PDW ocorreu nos pacientes com gravidade e a frequência de plaquetas ativadas caiu naqueles sem gravidade.

Palavras-Chave: HIV, Aids, plaquetas, imunofenotipagem, MPV, PDW.

ABSTRACT

Chronic thrombocytopenia is a common hematologic disorder in patients infected with the human immunodeficiency virus (HIV) and may be associated with a variety of bleeding abnormalities, despite being often asymptomatic. The underlying mechanisms of HIV-related thrombocytopenia include accelerated destruction of peripheral platelets and decreased bone marrow production. MPV and PDW may be indices of platelet activation. The study evaluated platelet indices and activated platelet subsets at outcomes of 44 people living with HIV/AIDS who were admitted to the FMT-HVD. Blood samples were collected until 24 hours after hospital admission and afterwards between the 3rd and 7th of admission day. Platelet indices were determined, and Platelet Rich Plasma (PRP) was collected for evaluation of platelets activated by flow cytometry with anti-CD62, anti-CD41 and anti-CD42 antibodies. Seven patients died and none of the platelet indices were associated with death. Regarding thrombocytopenia, MPV was statistically lower among non-thrombocytopenic patients, PDW was above normal in almost all patients, however thrombocytopenic patients had a statistically higher elevation indicating exacerbated platelet activation. Only thrombocytopenic patients had negative correlations of MPV and PDW with frequency of CD42+CD41+ platelets. When patients were classified according to severity of illness [vasoactive drug requirement, ventilatory support, ICU, hiperferritinemia (ferritin >1000), lactate dehydrogenase >1000], those with at least one of these criteria had a reduced mean platelet count (not necessarily thrombocytopenia) and the mean PDW was statistically higher. Thrombocytopenia was not characteristic of severe illness. The findings suggest that the elevation of MPV in thrombocytopenic patients would be a compensatory marrow response. In addition, platelet activation may be used in clinical monitoring, patients with severe illness exacerbated PDW on admission, and the frequency of activated CD62+ platelets dropped in those hospitalized without severe illness.

Keywords: HIV, Aids, platelets, immunophenotyping, MPV, PDW.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Mortes relacionadas à Aids entre 2000 e 2021, global.	16
Figura 2 Taxa de detecção de Aids (por 100.000 habitantes) segundo UF e capital de residência.	17
Figura 3 Número de casos de Aids e mortes relacionadas à Aids por município do Estado do Amazonas entre 2001 e 2012.	18
Figura 4 Estrutura do HIV.	19
Figura 5 Mapa do gene do HIV.	20
Figura 6 Ciclo de vida do HIV.	21
Figura 7 História natural da infecção pelo HIV.	23
Figura 9 Prevalência de comorbidades não associadas à Aids em pacientes infectados com HIV vs controle.	28
Figura 10 Receptores de superfície plaquetária que reconhecem o HIV.	31
Figura 11 Morfologia plaquetária.	33
Figura 12 Análise dos índices plaquetários com a contagem e frequência de plaqueta.	49
Figura 13 Análise dos índices plaquetários com a contagem e frequência de plaqueta.	50
Figura 14 Análise da quantidade e nível de expressão do receptor CD62 através da média de intensidade de fluorescência (MIF) entre pacientes HIV+ trombocitopênicos e não trombocitopênicos.	52
Figura 15 Análise da quantidade e nível de expressão do receptor CD62 através da média de intensidade de fluorescência (MIF) entre pacientes HIV+ trombocitopênicos e não trombocitopênicos em D0 em comparação com D3 e D7.	53
Figura 16 Análise da relação de tempo de internação com presença de trombocitopenia e algum critério de gravidade entre pacientes HIV+.	53
Figura 17 Análise da comparação de contagem de plaquetas, índices plaquetários, expressão de CD62 e MIF em relação à gravidade em pacientes HIV+.	55
Figura 18 Frequências de plaquetas CD62P e sua expressão por MIF em relação à gravidade da infecção.	56

ABREVIATURAS E SIGLAS

AANCC	<i>Age-associated non-communicable comorbidity</i>
ADP	Adenosina difosfato
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
ATP	Adenosina trifosfato
CCR5	Receptor de quimioquina tipo 5
CDC	<i>Centers for Diseases Control and Prevention</i>
CXCR4	Receptor de lectina tipo 4
CD62P	Receptor P-selectina
DC	Célula dendrítica
DC-SIGN	Receptor de lectina tipo C
DHL	Desidrogenase láctica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
<i>Env</i>	Gene estrutural do HIV
FMT-HVD	Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado
<i>Gag</i>	Gene estrutural do HIV
GALT	Tecido linfóide do intestino
GP	Glicoproteína
gp120	Glicoproteína 120 do HIV
gp41	Glicoproteína 41 do HIV
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antígeno leucocitário humano
IgG	Imunoglobulina G

IgM	Imunoglobulina M
IL	Interleucina
LTR	<i>Long terminal repeat</i>
LTNP	<i>Long-term nonprogressors</i>
Nef	Gene funcional do HIV
NO	Óxido nítrico
PF4	Fator plaquetário 4
PGE₁	Prostraglandina
Pol	Gene estrutural do HIV
PRP	Plasma rico em plaquetas
PVHIV	Pessoas vivendo com HIV e Aids
RNA	Ácido ribonucleico
Sinan	Sistema de Informações de Agravos de Notificação
T CD4+	Linfócito T auxiliar
T CD8+	Linfócito T citotóxico
TARV	Terapia antirretroviral
Tat	Gene funcional do HIV
TLR	Receptores Toll-like
TNF	Fator de necrose tumoral
Treg	Células T reguladoras
Tcm	Células T de memória
Th	Células T <i>helper</i>
UNAIDS	<i>The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS</i>
Ver	Gene funcional do HIV

<i>Vif</i>	Gene funcional do HIV
<i>Vpr</i>	Gene funcional do HIV
<i>Vpu</i>	Gene funcional do HIV
Vigiweb	Vigilância Epidemiológica e Informações Online
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1. REVISÃO DE LITERATURA	15
1.1 Epidemiologia HIV e HIV/Aids	15
1.2 O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)	18
1.3 A patogênese na infecção pelo HIV	22
1.4 A interação imunológica entre patógeno e hospedeiro	24
1.5 A TARV	25
1.6 Comorbidades não associadas à Aids	26
1.7 Transtornos trombohemostáticos na infecção pelo HIV	28
1.8 Plaquetas no contexto da infecção pelo HIV	30
1.8.1 Biologia das plaquetas	32
1.8.2 Receptores de plaquetas	35
1.8.3 Plaqueta como objeto desse estudo	39
1.8.4 Plaqueta como agente multifuncional	39
2. JUSTIFICATIVA	41
3. OBJETIVOS	42
3.1 Objetivo Geral	42
3.2 Objetivos Específicos	42
4. ESTRATÉGIAS METODOLÓGICAS	43
4.1 Considerações éticas	43
4.2 Tipo, população, local de estudo e desenho experimental	43
4.3 Critérios de inclusão e exclusão	44
4.4 Critérios de gravidade	44
4.5 Coleta de dados e de amostras biológicas	44
4.6 Processamento das amostras	45
4.7 Leitura e análise das amostras	46
4.8 Análise estatística	46
5. RESULTADOS	47
5.1 Características da população	47

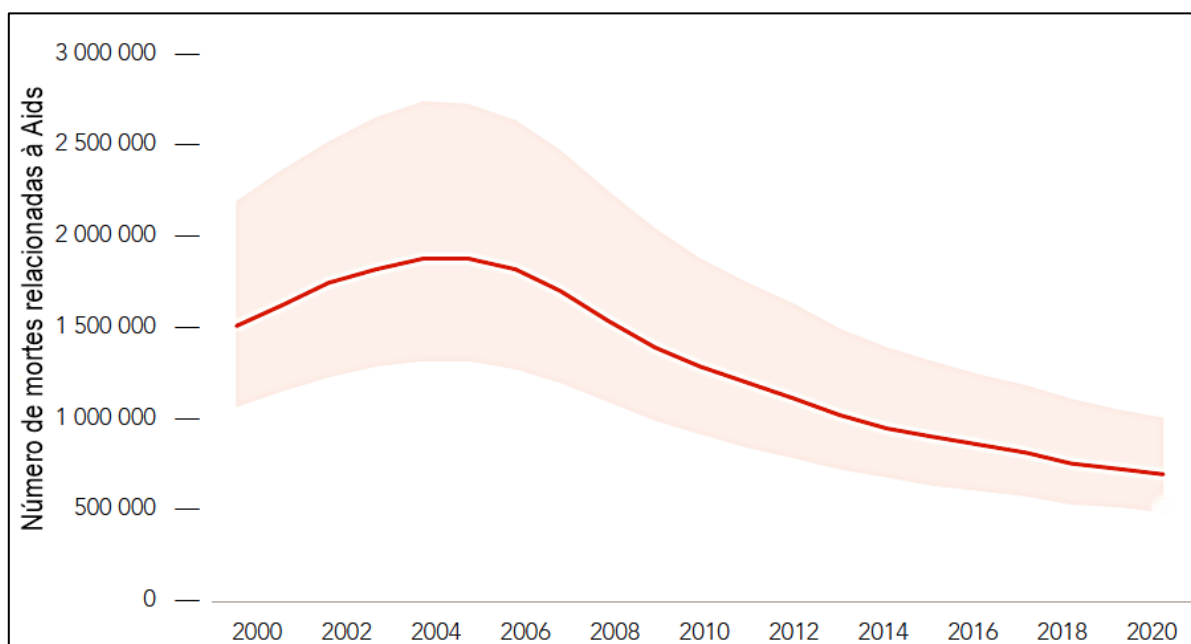
5.2 Índices plaquetários e Trombocitopenia	49
5.3 Análise dos índices plaquetários com gravidade da infecção	53
6. DISCUSSÃO	57
7. LIMITAÇÕES	61
8. CONCLUSÃO	62
9. REFERÊNCIAS	63
10. ANEXOS	77

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Epidemiologia HIV e HIV/Aids

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA ou *acquired immunodeficiency syndrome* - Aids) foi reportada em 1981 por Gottlieb (*Centers for Diseases and Prevention*; Los Angeles, EUA), a partir da identificação de um número elevado de pacientes adultos que apresentavam sarcoma de Kaposi, pneumonia por *Pneumocystis carinii* e comprometimento do sistema imune. Em 1983, o agente etimológico foi identificado como um retrovírus humano, o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Desde então, a infecção por HIV e sua manifestação clínica avançada, Aids, tornaram-se uma epidemia que se espalhou em vários países. Os medicamentos antirretrovirais surgiram no final da década de 80. Em 1987, a Agência de Alimentos e Drogas dos Estados Unidos (*Food and Drug Administration*) aprovou a zidovudina ou azidotimidina (AZT) para uso em pacientes com HIV. Inicialmente desenvolvido para tratamento do câncer, o AZT tinha alguma habilidade em controlar o HIV e passou a ser utilizado no tratamento de HIV/Aids. Com o advento da terapia antirretroviral (TARV), a aids assumiu características de doença crônica, em especial nos países onde o acesso aos medicamentos é efetivamente garantido (DE COCK; JAFFE; CURRAN, 2011; GOTTLIEB, 2006; MAIA; REIS JUNIOR, 2019; ROUQUAYROL & SILVA, 2018).

De acordo com o mais recente levantamento do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/Aids (UNAIDS), 37,7 milhões de PVHIV em todo o mundo e 10,2 milhões dessas pessoas não estão sob tratamento antirretroviral (UNAIDS, 2021). Em termos de mortes relacionadas à Aids, o crescente aumento ao acesso e adesão à terapia antirretroviral (TARV) aumentou os índices de sobrevivência das PVHIV (UNAIDS, 2021; MAARTENS et al., 2014). Até 2020, a redução de mortalidade por alguma doença associada à Aids havia atingido 47% dos valores equivalentes a 2010 (Figura 1). Essa redução tem sido dependente das medidas de prevenção da transmissão do HIV adotadas em cada região do mundo (UNAIDS, 2021). Hoje, o enfrentamento da HIV/Aids passou a ter outras estratégias baseadas em nichos da sociedade e nas relações socioeconômicas.

Figura 1 Mortes relacionadas à Aids entre 2000 e 2021, global.

Fonte: UNAIDS, 2021.

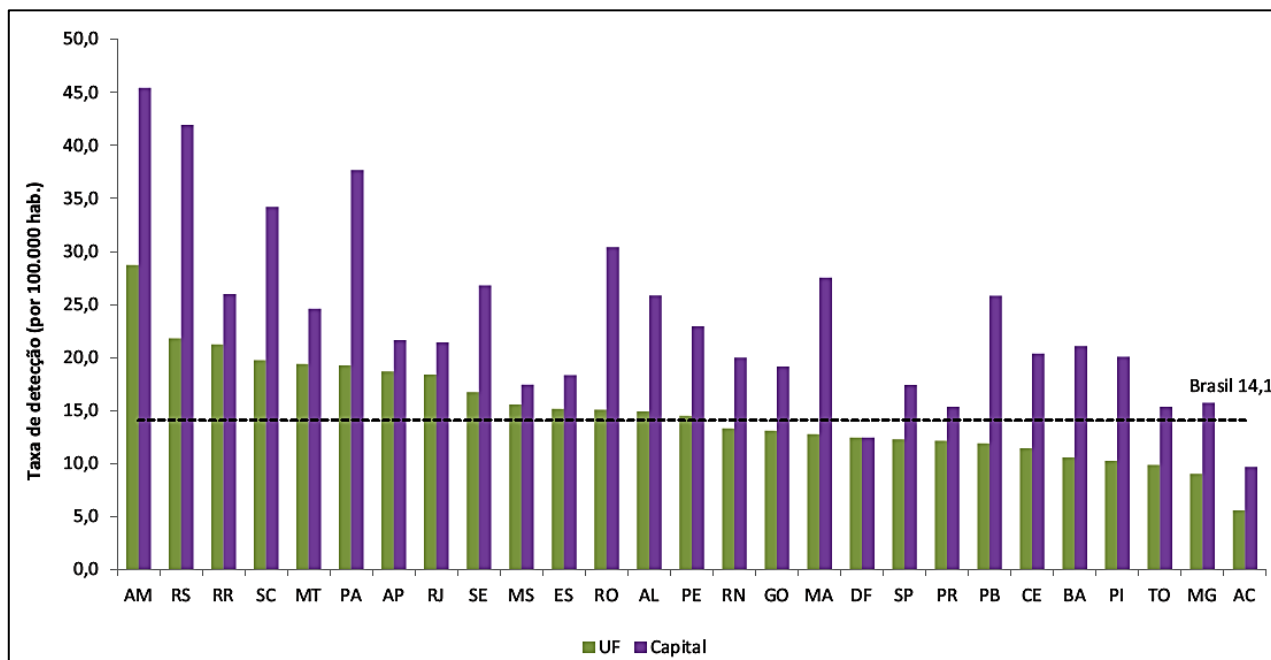
Até 2021, o número de casos de HIV ou HIV/Aids registrados no Brasil eram 1.045.355 casos, 50,6% e 19,8% dos casos estavam concentrados nas regiões Sudeste e Sul respectivamente e seguidos das regiões Nordeste (16,5%), Norte (6,9%) e Centro-Oeste (6,2%) (BRASIL, 2021). Nos últimos cinco anos, a média anual de 36,8 mil novos casos de Aids, um número que vem apresentando tendência de diminuição em relação ao valor máximo de 2013 quando 43.493 casos foram registrados. Em relação ao sexo, hoje os homens representam 69,8% dos casos e mulheres 30,2%. De acordo com a idade, a maioria dos novos casos de infecção ocorre entre indivíduos de 20 a 34 anos, representando um total de 52,9% dos casos (BRASIL, 2021).

As regiões Norte e Nordeste parecem caminhar na contramão em relação ao percentual nacional das taxas de detecção de HIV/Aids, uma vez que tem sido observado um crescimento na taxa de detecção nessas regiões. Comparativamente, as taxas registradas em 2009 eram 20,9 e 14,1 casos por 100 mil habitantes, respectivamente. Em 2019, os números subiram para 26,0 e 15,7. Um ranking em 2020 mostrou novo 28,7 casos por 100 mil habitantes, seguido do estado do Rio Grande do Sul (21,8) e Roraima (21,2) (Figura 2).

Em 2019, os dados coletados por um novo sistema de Vigilância Epidemiológica e Informações Online (Vigiweb) da FMT-HVD registrou 578 novos casos de Aids, sendo

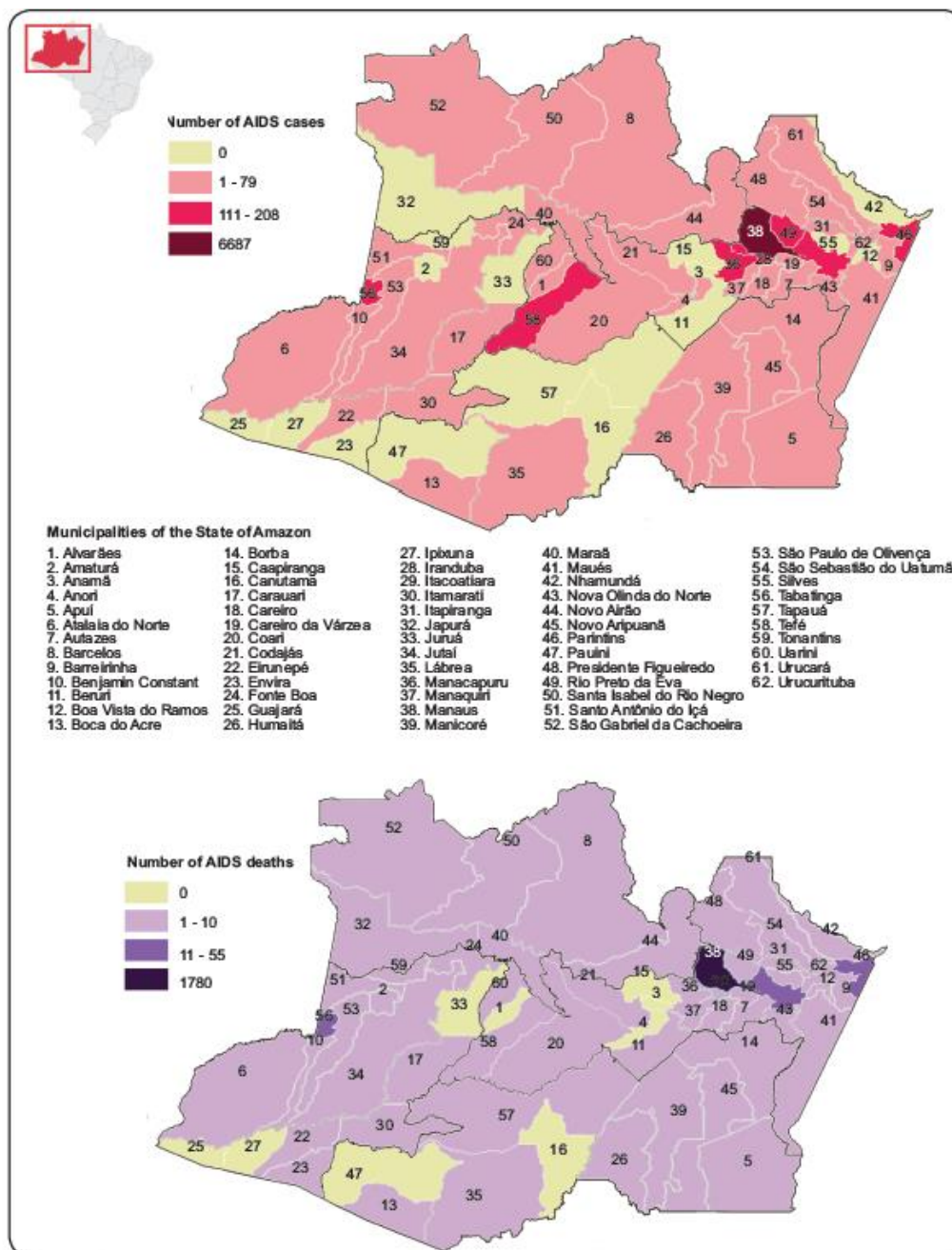
567 (98,1%) casos em indivíduos acima de 13 anos e 11 (1,5%) com menos de 13 anos. Manaus, capital do Amazonas, apresentou uma taxa de 45,4 casos por 100 mil habitantes em 2020, valor superior à taxa do Amazonas e 3,2 vezes maior que a taxa de detecção total do Brasil. (BRASIL, 2021). Além disso, foram registradas 212 mortes relacionadas à HIV/Aids em 2020. Esses dados reforçam a gravíssima situação epidemiológica de HIV/Aids no Amazonas foi melhor reportada pelo o número anual de mortes relacionadas à AIDS no estudo de Oliveira e colaboradores (OLIVEIRA et al., 2015). Ao longo dos anos, entre 2001 e 2012, o número anual de mortes relacionadas à HIV/Aids apresentou uma tendência de crescimento constante. Em 2001, o número de mortes relacionadas à HIV/Aids foi de 102 enquanto esse número passou para 216 em 2011, e o maior pico foi registrado em 2010 com 283 mortes. Isso mostra uma realidade seríssima de quase um óbito por HIV/Aids a cada dois dias (OLIVEIRA et al., 2015). O estudo mostrou também que 85,9% dessas mortes ocorreram em Manaus em relação aos 46 municípios do estado do Amazonas (Figura 3).

Figura 2 Taxa de detecção de Aids (por 100.000 habitantes) segundo UF e capital de residência.



Fonte: BRASIL, 2021.

Figura 3 Número de casos de Aids e mortes relacionadas à Aids por município do Estado do Amazonas entre 2001 e 2012.



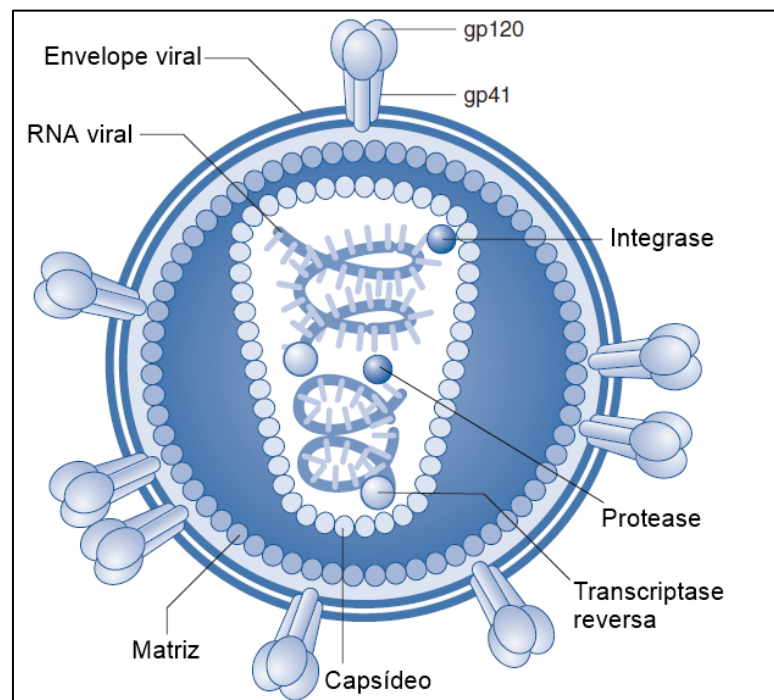
Fonte: OLIVEIRA, et al. (2015)

1.2 O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)

Pertencente ao gênero *Lentivirus* e membro da família *Retroviridae*, o HIV é um retrovírus esférico com um diâmetro de 1/10.000 de milímetro. O vírus é revestido por um envelope viral composto por uma dupla camada lipídica (vírion) e originada a partir da membrana de uma célula humana como fosse um brotamento.

O envelope viral contém duas glicoproteínas que são essenciais para a invasão do vírus nas células hospedeiras: a gp120 e gp41. Abaixo do envelope, encontra-se uma matriz proteica que reveste o capsídeo viral. No capsídeo, são encontradas duas moléculas de RNA de fita simples, além de enzimas virais necessárias para a replicação: transcriptase reversa, integrase e protease (Figura 4) (PATEL et al. 2020; TEIXEIRA et al., 2011).

Figura 4 Estrutura do HIV.



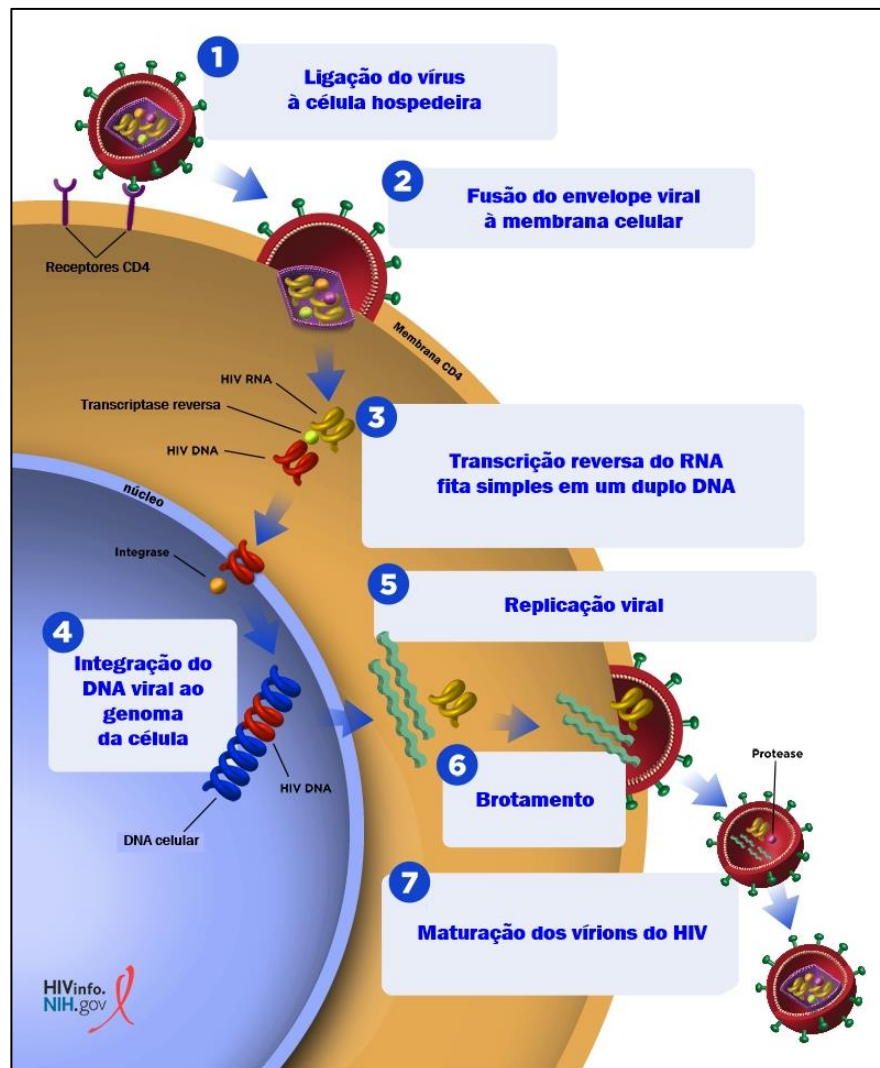
Fonte: NIAID (2010).

O genoma de RNA do HIV possui três genes principais que estão fortemente associados à estrutura e replicação viral: (1) o gene *gag*, que codifica as proteínas estruturais do núcleo, tais como o capsídeo, nucleocapsídeo e matriz; (2) *pol*, codificando as enzimas transcriptase reversa, integrase e protease, indispensáveis na replicação viral; e (3) *env*, o gene responsável pela síntese das proteínas do envelope viral, gp120 e gp41. Além disso, o genoma também é constituído por genes regulatórios (*tat* e *rev*) e genes acessórios (*nef*, *vif*, *vpr* e *vpu*).

Por fim, estes genes são cercados por longas sequências terminais repetidas, *LTRs*, onde desempenham o papel de regular a expressão dos genes virais, a integração

enzima transcriptase reversa, que converte o genoma de RNA do HIV de fita simples em uma dupla fita de DNA (Passo 3) (GHIMIRE; RAI; GAUR, 2014). O DNA recém-formado é então transportado para o núcleo da célula hospedeira, onde é integrado ao genoma celular através da enzima viral integrase (Passo 4) (LUSIC & SILICIANO, 2017). Feito isso, ocorre a transcrição e tradução das proteínas virais pela enzima protease, o que caracteriza a replicação viral (Passo 5), seguido do deslocamento desses elementos para a membrana celular, onde novos vírions do HIV imaturos são montados e se desprendem da célula hospedeira através de brotamento (Passo 6) (FREED, 1998). Fora da célula, a enzima viral protease cliva a poliproteína gag-pol, originando proteínas funcionais menores, tornando assim os vírions do HIV agora maduros (Passo 7) (PATEL et al., 2020).

Figura 6 Ciclo de vida do HIV.



Fonte: AIDSInfo (2017).

1.3 A patogênese na infecção pelo HIV

Uma vez a transmissão ocorrida, o vírus HIV invade o organismo atravessando o epitélio das mucosas através de transcitose ou pelo contato com as células dendríticas intraepiteliais (MCMICHAEL et al., 2010). O vírus dissemina para os tecidos linfoides periféricos e de mucosas, principalmente aquelas localizadas no tecido linfoide associado ao intestino (GALT – do inglês *gut-associated lymphoid tissue*) (BRENCHLEY et al., 2004). No linfonodo, as células infectadas, como as células dendríticas (DC – do inglês *dendritic cells*), encontram células T CD4+, onde estabelecem os reservatórios virais responsáveis pela viremia plasmática na infecção primária (GEIJTENBEEK et al., 2000).

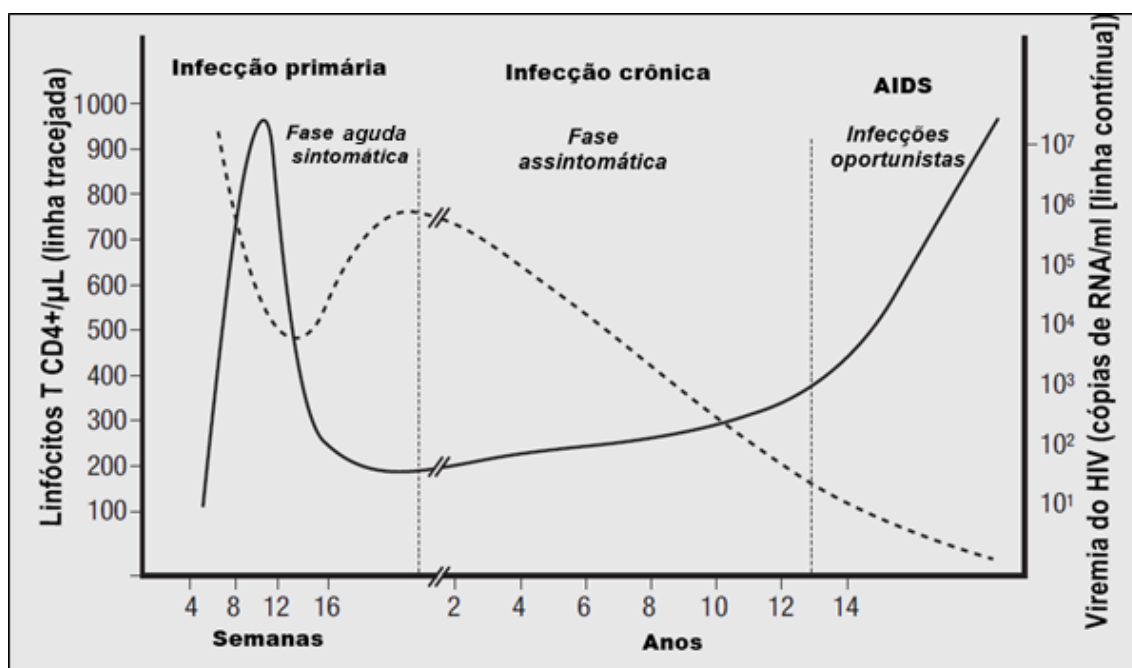
Após duas a quatro semanas posteriores à transmissão viral, inicia-se a infecção primária nos indivíduos infectados. A infecção primária é aguda e tem como principal característica uma depleção maciça de células T CD4+ (Figura 7). Ela é resultado de uma replicação intensa no qual os níveis de viremia plasmática podem atingir até 10 milhões de cópias por mililitro (LITTLE et al., 1999; MOIR et al., 2011; PIATAK et al., 1993). Nesta fase inicial, 40% a 90% dos indivíduos podem apresentar sintomas clínicos semelhantes à gripe, tais como febre, diarreia, mialgia, anorexia e erupção cutânea (QUINN, 1997).

Com o vírus se replicando rapidamente e sendo espalhado por todo o corpo para outros tecidos linfoides, o organismo começa a desenvolver respostas imunes contra o vírus. A resposta imune humoral é desenvolvida através da produção de anticorpos pelos plasmócitos e estabelecimento da soroconversão. Na maioria das pessoas, a soroconversão ocorre 30 dias após a infecção, mais em alguns indivíduos a soroconversão podem ocorrer após a terceira semana ou mesmo meses após. A resposta imune humoral gera anticorpos neutralizantes para o HIV que contribui para redução da carga viral. No entanto, essa resposta sofre falha em erradicar o vírus devido a mutações e que leva uma recolonização de novos variantes do vírus, seja por escape imunológico devido alteração epitópicas nos antígenos, seja por modificações nos componentes sacarídeos das glicoproteínas que tornam os vírus mais resistentes à neutralização (MOIR; CHUN; FAUCI, 2011b; RICHMAN et al., 2003; WEI et al., 2003).

A imunidade celular antiviral também ocorre e por meio de células *natural killers* (NK) e de linfócitos citotóxicos CD8+ após semanas da infecção. Ambos os mecanismos de defesa ajudam a reduzir a carga viral plasmática e a recuperação da

quantidade de células T CD4+. Os vírus remanescentes levam ao desenvolvimento da infecção crônica, durante o qual estabelecem as formas de vírus latentes e outros circulantes (GANDHI & WALKER, 2002; STAPRANS & FEINBERG, 2004).

Figura 7 História natural da infecção pelo HIV.



Fonte: FANALES-BELASIO et al. (2010).

A fase crônica da infecção é caracterizada por um estado clínico assintomático devido à queda dos níveis de viremia do HIV no sangue pela ação antiviral induzida pelas respostas imunes inatas e adaptativas (FANALES-BELASIO et al., 2010; FORD et al., 2009). A fase crônica pode durar em torno de meses e até mesmo anos. Nesta fase há uma perda lenta e progressiva de células T CD4+ e que leva a um comprometimento do sistema imunológico dos indivíduos. Esse comprometimento é evidenciado também por um estado de ativação imune crônica das células imunológicas e acompanhado por um desarranjo do equilíbrio homeostático das células do sistema imune nos tecidos linfóides (FANALES-BELASIO et al., 2010; FORD et al., 2009; SAKSENA et al., 2007).

A última fase da infecção pelo HIV é a progressão para a Aids, progressão esta que varia de acordo com a capacidade do hospedeiro em conter a replicação viral e a “reposição” de células T CD4+. De acordo com dados apontados pela UNAIDS/WHO,

na era pré terapia antirretroviral, o tempo médio desde o início da infecção até à morte relacionada à Aids era de 11 anos (BROOKS et al., 2009; FANALES-BELASIO et al., 2010; GANDHI & WALKER, 2002).

1.4 A interação imunológica entre patógeno e hospedeiro

Após a fase inicial da infecção, a evolução da doença varia de acordo com o tipo de hospedeiro em função da interação dos fatores virais juntamente com os do hospedeiro. Na ausência de um tratamento, a depleção das células T CD4+ e a perda do equilíbrio homeostático do tecido linfóide são contínuas na grande maioria dos indivíduos. Uma vez que a contagem de células T CD4+ no sangue periférico atinge níveis <200 células μ /L, o indivíduo está sujeito a desenvolver infecções oportunistas ocasionadas por fungos, bactérias, vírus e parasitos, assim como câncer, o que pode levar o sujeito ao óbito (MOIR et al., 2011)(DERDEYN et al., 2004; KEELE et al., 2008; SALAZAR-GONZALEZ et al., 2009).

Desde o surgimento do HIV, verificou-se que poucos indivíduos infectados mantinham a contagem de células T CD4+ em níveis estabilizados por muito tempo, bem como a carga viral baixa e/ou indetectável sem o uso da TARV (CAO et al., 1995; GAARDBO et al., 2012; MUÑOZ et al., 1995; NISSEN et al., 2018; PANTALEO et al., 1995). Uma vez que tendem a progredir de forma lenta para um estágio mais avançado da infecção, a Aids, esses indivíduos foram denominados como “não progressores de longo prazo” (LTNP – do inglês *long-term nonprogressors*) também conhecidos como “controladores de elite” (DEEKS; WALKER, 2007).

Os estudos com os indivíduos LTNPs tem sido importantes para o entendimento dos mecanismos naturais de supressão na replicação viral (LASSEN et al., 2009). Alguns tem sido sugerido que as moléculas HLA desses indivíduos LTNPs sejam mais eficientes na apresentação antigênica, aumentando assim os níveis de reconhecimento dessas células por parte de células T CD8+ (MOIR; CHUN; FAUCI, 2011b). Outros mostraram que as células T CD8+ dos LTNPs apresentam uma maior taxa de efetividade de proliferação, capacidade de secretar citocinas múltiplas e capacidade de responder a variantes virais em relação às células T CD8+ de progressores (BAILEY et al., 2006; BETTS et al., 2006; MIGUELES et al., 2002).

O fato da progressão lenta nos controladores de elite não indica que o vírus está erradicado. Estudos sugeriram que os controladores de elite possuem provírus intactos e integrados desproporcionalmente em locais que têm atividade transcricional limitada. Além disso, a detecção de vírus foi detectada no plasma em muitos controladores de elites. No entanto os controladores de elite são importantes para aprofundar a pesquisa em busca de uma cura esterilizante (WOLDEMESKEL; KWAA; BLANKSON, 2020).

1.5 A TARV

O uso associado de múltiplos medicamentos pertencentes a diferentes classes farmacológicas para manejo da infecção pelo HIV, é conhecido como terapia antirretroviral (TARV). Símbolo de um grande avanço terapêutico e conquista médica, a TARV atualmente oferece vários benefícios: i) individualmente: redução de morbidade e mortalidade e consequentemente aumento da expectativa de vida; ii) aspectos sociais econômicos: redução de transmissão viral na sociedade e resgate do paciente a vida socio econômica, devolvendo a possibilidade de volta ao trabalho, de realizar seus objetivos e sonhos, oferecer a chance de ser produtivo para sociedade; iii) saúde pública: alívio da carga de hospitalização nos sistemas de saúde pública e privada (LU et al., 2018; PATTERSON et al., 2015; TEERAANANCHAI et al., 2017; ZHAO; MCGOOGAN; WU, 2019).

A era da TARV iniciou com o AZT (1987) e hoje tem a disponibilidade de mais de 40 medicamentos (YOSHIMURA, 2017). A terapia antirretroviral bem-sucedida aumentou a expectativa de vida das PVHIV (COMMISSIONER, 2021). Apesar do sucesso da TARV em suprimir a replicação viral a níveis indetectáveis, a sua maior desvantagem é que a terapia com TARV é apenas inibitória para o HIV, não erradicante (KREBS; ANANWORANICH, 2016; POMERANTZ; HORN, 2003; TING-REN LU, 2013). Durante o curso da infecção, o vírus desenvolve reservatórios em células T CD4+ na forma latente, permitindo que as PVHIV continuem carregando o vírus em seus corpos e, embora o início precoce da TARV diminua o tamanho desses reservatórios, se o uso da TARV for interrompido ou o vírus apresentar resistência aos medicamentos, o vírus em breve volta a se replicar (KREBS; ANANWORANICH, 2016; LU et al., 2018; STEINGROVER et al., 2008).

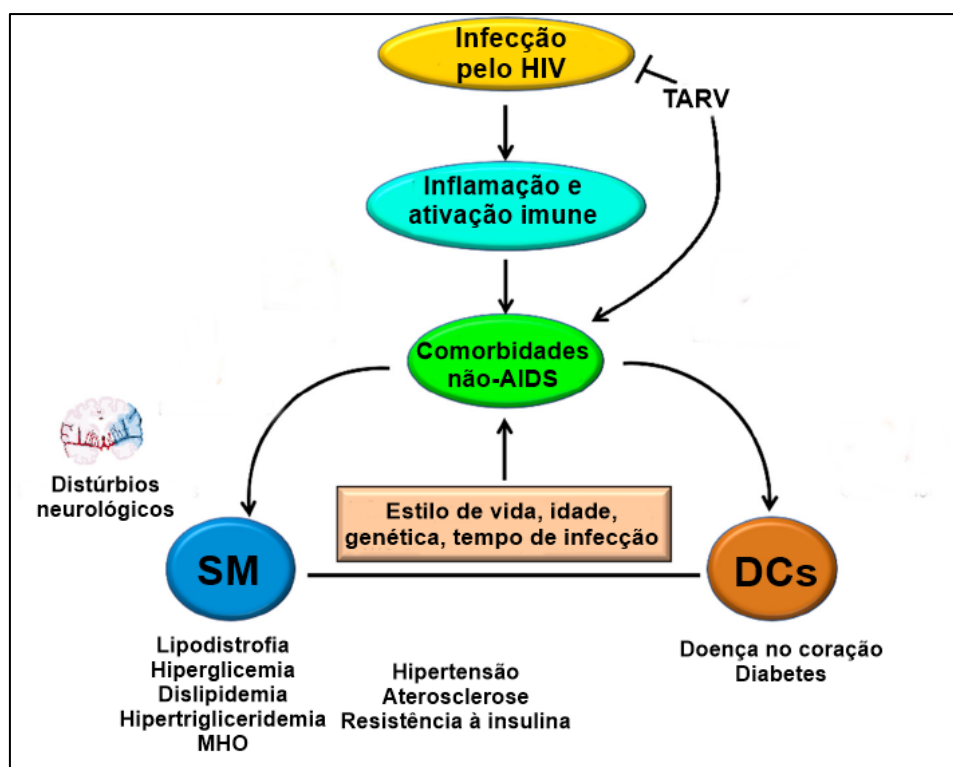
Vale destacar, que o Brasil é um dos principais países-modelo no enfrentamento do HIV. Ele é conhecido por ter respondido com várias maneiras ousadas e inovadoras à pandemia de HIV. Em 1996, o Brasil foi o primeiro país de renda média do mundo a oferecer terapia antirretroviral (TARV) gratuita a todas as pessoas que vivem com terapia antirretroviral (TARV) a todas as pessoas vivendo com HIV (PVHIV). Em 2013, foi o terceiro a fornecer TAR a todas as PVHIV, independentemente da contagem de células T CD4+, enquanto a Organização Mundial da Saúde começou a recomendar esse tratamento para todos 2 anos depois, em 2015 (BENZAKEN et al., 2019; BRASIL, 2018).

1.6 Comorbidades não associadas à Aids

Em virtude do sucesso da TARV, a infecção pelo HIV é considerada uma doença crônica (ZICARI et al., 2019). Em contrapartida, a persistência do HIV no organismo estabelece um estado crônico de ativação imunológica e inflamatória. Esse estado crônico tem como consequência um aumento de citocinas pró-inflamatórias que persiste e que contribui para algumas disfunções a longo prazo (BRITES-ALVES et al., 2018; MANJATI; NKAMBULE; IPP, 2016; SOKOYA et al., 2017)(SWAMI, 2016). A nível sistêmico, a inflamação persistente torna os pacientes infectados susceptíveis a desenvolverem distúrbios que normalmente estão associadas à população mais idosa, tais como distúrbios neurocognitivos, doenças cardiovasculares, síndrome metabólica (SM), anormalidades ósseas, disfunção do timo e dano tecidual (disbiose intestinal) e malignidades não associadas ao HIV (Figura 8) (BEDIMO; ABODUNDE, 2016; BORGES; DUBROW; SILVERBERG, 2014; BOSHO et al., 2018; BOURGI; WANJALLA; KOETHE, 2018; DRAGOVIĆ et al., 2018, 2018; FAHME; BLOOMFIELD; PECK, 2018; HUSAIN et al., 2017; IDICULLA et al., 2018; IVY et al., 2015; LAKE, 2017; NASI et al., 2014; NGUYEN et al., 2016; PEDRO et al., 2018; PERAZZO et al., 2018; RAPOSO et al., 2017; ROGALSKA-PŁOŃSKA et al., 2018; SCUTARI et al., 2017; SINGH et al., 2017; SOKOYA et al., 2017; THEENGH et al., 2017; XU; CHEN; WANG, 2017; ZICARI et al., 2019).

A maioria dos pacientes infectados sob tratamento de TARV a longo prazo acaba desenvolvendo uma SM, que consiste em uma combinação de distúrbios metabólicos, incluindo hiperglicemia, alterações na distribuição de gordura, hipertensão, aumento de colesterol baixo (conhecido como lipoproteína de baixa densidade, ou “*low density lipoprotein*”, LDL) e nível reduzido de colesterol alto (lipoproteína de alta densidade, ou “*high density lipoprotein*”, HDL). Somados, esses fatores podem eventualmente ocasionar doenças cardiovasculares, como doenças cardíacas, derrame e diabetes (ALSHEHRI, 2010; BOSHO et al., 2018; GAMI et al., 2007; RAPOSO et al., 2017).

Figura 8 Comorbidades não associadas à Aids.

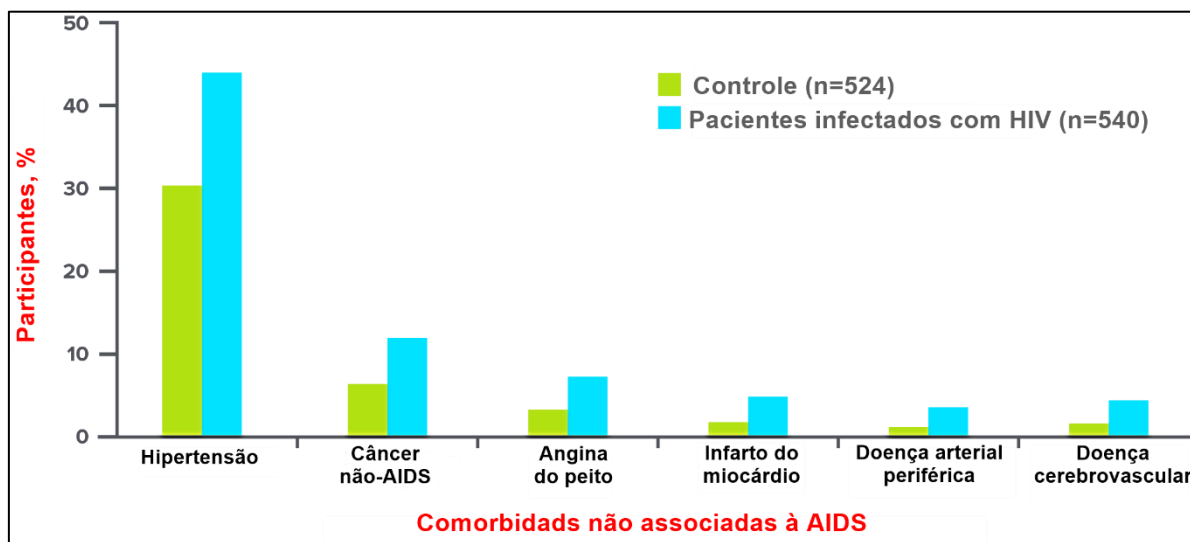


Fonte: Servier Medical Art images (2019).

Shouten et al (2014) verificaram a taxa de prevalência de comorbidades não transmissíveis associadas ao envelhecimento (AANCCs – do inglês: *age-associated non-communicable comorbidity*) em indivíduos infectados pelo HIV em relação aos controles não infectados e constataram que os indivíduos soropositivos apresentaram um número médio de AANCCs significativamente maior do que os controles, onde as comorbidades mais prevalentes foram hipertensão, câncer não relacionado à Aids e infarto do miocárdio

(Figura 9). Além disso, fatores como idade, tabagismo e histórico familiar positivo para o infarto do miocárdio, hipertensão ou diabetes mellitus tipo 2 parecem estar independentemente associados a um maior número total de AANCCs (SCHOUTEN et al., 2014).

Figura 9 Prevalência de comorbidades não associadas à Aids em pacientes infectados com HIV vs controle.



Fonte: SHOUTEN (2014).

1.7 Alterações plaquetárias na infecção pelo HIV

A infecção pelo HIV é caracterizada por uma ativação imunológica crônica, inflamação persistente e desequilíbrio na rede de citocinas. Além disso, durante a infecção os pacientes tendem a apresentar alterações hematológicas significativas que culminam no desenvolvimento de diversas complicações que são observadas em pessoas que vivem com HIV/Aids (PVHIV) (FIRNHABER et al., 2010a). A medula óssea, órgão envolvido na formação do sangue, é um dos alvos do HIV durante a infecção, isso porque as células progenitoras hematopoiéticas expressam receptores CD4 e receptores de quimiocinas CXC do tipo 4 e do tipo 5, sendo estes últimos elementos essenciais para a infecção celular pelo HIV. Sendo assim, os efeitos diretos e indiretos da infecção pelo HIV provocam um desequilíbrio homeostático na medula óssea, prejudicando a proliferação e diferenciação celular durante a hematopoiese (DHURVE; DHURVE, 2013;

MARCHIONATTI; PARISI, 2021; TSUKAMOTO, 2020). Uma das principais alterações hematológicas relacionadas à disfunção da medula óssea no contexto da infecção pelo HIV é a anemia e a trombocitopenia, manifestações clínicas associadas ao aumento do risco de morte entre PVHIV (MARCHIONATTI; PARISI, 2021).

A trombocitopenia é uma das manifestações hematológicas mais comuns durante a infecção pelo HIV, além da redução na taxa de linfócitos T-CD4+. (KRISHNEGOWDA; RAJASHEKARAIHAH, 2015; MARCHIONATTI; PARISI, 2021). A trombocitopenia surge quando a contagem de plaquetas está abaixo de 150.000 células/mL. Essa condição varia de acordo com a contagem de células T CD4+, infecções oportunistas, tratamento com TARV e idade do indivíduo infectado pelo HIV (WONDIMENEH; MULUYE; FEREDÉ, 2014). Os principais mecanismos fisiopatológicos envolvidos na trombocitopenia são a falha na produção de plaquetas, depleção rápida de plaquetas e o aumento do sequestro de plaquetas a nível sistêmico e no baço, especialmente nos casos de esplenomegalia (DERESSA et al., 2018). Em virtude desses eventos, a trombocitopenia hoje é considerada um preditor de morbidade e mortalidade em PVHIV, estando diretamente relacionada com uma progressão acelerada para a Aids (TAREMWA et al., 2015; VISHNU; ABOULAFIA, 2015; WONDIMENEH; MULUYE; FEREDÉ, 2014).

Em contraste, a trombocitose é definida por uma superprodução de plaquetas, onde a média da contagem de plaquetas é >500 células/mL. A trombocitose pode ser hereditária, como na asplenia e no distúrbio mieloproliferativo primário, ou adquirida através de infecções agudas e doenças inflamatórias crônicas, como por exemplo a infecção pelo HIV (ROKKAM; KOTAGIRI, 2021). Ao estudar trombocitose em crianças soropositivas para o HIV, Ellaurie (2004) constatou que não houve manifestação de complicações trombóticas e não foi necessária terapia para tratar a trombocitose, embora os pacientes estivessem com sintomas de moderados a graves e com supressão imunológica grave. Assim, concluiu-se que a infecção pelo HIV é um agente etiológico para a trombocitose e está associada a doença grave, sendo assim um alerta para os médicos quando há a infecção grave por HIV.

1.8 Plaquetas no contexto da infecção pelo HIV

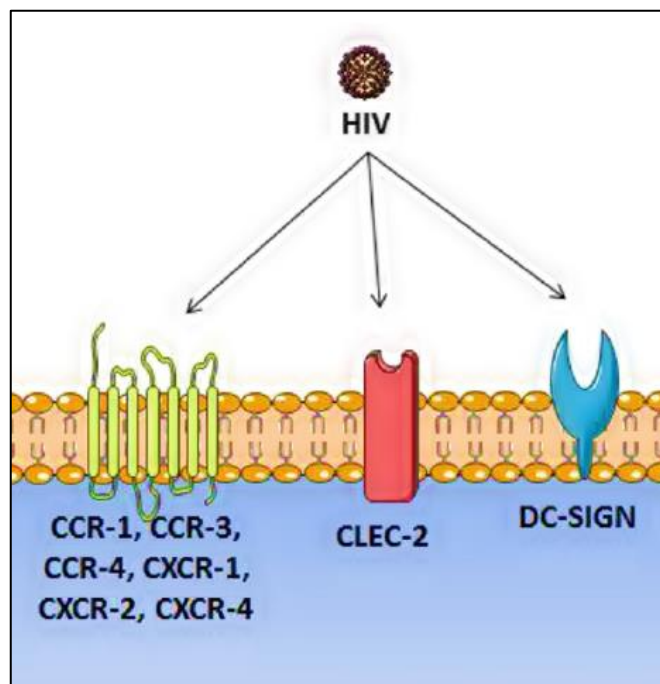
A trombocitopenia é uma condição frequente e independente do estágio de infecção, do sexo ou idade (MIGUEZ-BURBANO; JACKSON; HADRIGAN, 2005a). Os estudos que investigam a relevância dos índices plaquetários no contexto do HIV são escassos (NKAMBULE; DAVISON; IPP, 2015b)(MENA et al., 2011; NORDING; BARON; LANGER, 2020). Como a doença cardiovascular é uma das principais complicações atribuídas a doenças não-AIDS na era da TARV e as plaquetas desempenham um papel importante no início e na progressão da aterosclerose, é necessário o entendimento sobre os índices plaquetários no contexto do HIV (NORDING; BARON; LANGER, 2020).

As plaquetas apresentam uma resposta significativa durante a infecção pelo HIV, uma vez que diversos estudos têm demonstrado que alterações na contagem de plaquetas ou de marcadores de ativação plaquetária estão diretamente relacionados com a progressão da doença para a Aids e que a redução no número de plaquetas prevê um declínio de células T CD4+ (METCALF PATE; MANKOWSKI, 2011; MUÑOZ et al., 1988; S et al., 2009). Rieg G et al. (2007) avaliaram a relação entre a contagem de plaquetas, carga viral plasmática e progressão da doença em uma coorte de crianças e adolescentes infectadas pelo HIV e observaram que contagens de plaquetas mais altas estavam relacionadas ao risco aumentado de progressão para Aids e até mesmo o óbito (RIET et al., 2007).

As plaquetas podem interagir com o HIV através de receptores do tipo CXCR (α -chemokine receptors) e CCR (β -chemokine receptors) e favorecer a infecção do HIV (Figura 10). Os receptores do tipo CXCR (1, 3, e 4) e CCR (1, 3 e 4), além do receptor DC-SIGN estão presentes em macrófagos e células dendríticas e podem servir de entrada ao HIV (CHABERT et al., 2015). Como esses receptores estão presentes em plaquetas o HIV ligado às plaquetas pode infectar células permissivas e contribuir para a disseminação do vírus. Estudo *in vitro* com linhagem de células MT4 demonstrou essa capacidade plaquetas portadoras de vírus e facilitando a replicação viral nessas células (PUGLIESE et al., 1996). Por outro lado, as plaquetas podem exercer um papel protetor durante a infecção ao internalizarem o HIV em suas vesículas endossomais. Tem sido sugerido que esse processo pode inativar o HIV uma vez que a vesícula endocítica entra

em contato com os grânulos- α presente no interior das plaquetas. Esses componentes granulares possuem atividade antiviral, podendo assim, parcialmente, controlar a replicação viral e limitar a disseminação sistêmica do vírus no organismo (BOUKOUR et al., 2006; TORRE; PUGLIESE, 2008; YOUSSEFIAN et al., 2002).

Figura 10 Receptores de superfície plaquetária que reconhecem o HIV.



Fonte: CHARBET (2015).

No contexto da inflamação crônica na infecção pelo HIV, as plaquetas circulam no sangue em um estado ativado e são, frequentemente, estimuladas a produzir e secretar grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias (HOLME et al., 1998). Durante processos inflamatórios e/ou infecciosos, as plaquetas são prontamente recrutadas para o local onde o distúrbio está ocorrendo, onde interagem com leucócitos e secretam citocinas, quimiocinas e mediadores inflamatórios (WEYRICH; ZIMMERMAN, 2004). Esse processo acaba levando a trombocitopenia e que é acompanhada por um aumento de a IL-1 beta, fator de necrose tumoral (TNF)- α , IL-6 e IL-8. (SCOTT-ALGARA et al., 1991). Os níveis plasmáticos de quimiocinas pode aumentar em até 10 vezes durante a infecção pelo HIV, o que acaba contribuindo para a piora do quadro clínico do paciente uma vez que a inflamação será mais exacerbada (DESHMANE et al., 2009).

Assim, a trombocitopenia no HIV se tornou um desafio médico devido sua associação com uma rápida progressão da doença e por complicar o manejo de pacientes com AIDS. Por isso, há urgência sobre o entendimento da fisiopatologia da trombocitopenia e para avaliar a necessidade ou não de elaboração de protocolos de tratamento (MIGUEZ-BURBANO; JACKSON; HADRIGAN, 2005a).

1.8.1 Biologia das plaquetas

As plaquetas são os menores elementos determinados nos hemogramas, exibindo um tamanho de 2–3 μm . Um indivíduo adulto geralmente possui quase um trilhão de plaquetas em circulação no sangue, cada uma com uma vida média entre 5 e 9 dias (THON; ITALIANO, 2012). As plaquetas não possuem núcleo e são produtos da fragmentação do citoplasma dos megacariócitos; circulam no sangue sob o estado inativo em função de componentes celulares (prostaglandina – PGE1, óxido nítrico – NO e CD39/ADPase) que inibem a ativação plaquetária, ao menos que algum estímulo interno e/ou externo induza a ativação plaquetária (ANGIOLILLO; UENO; GOTO, 2010; GARRAUD; COGNASSE, 2015).

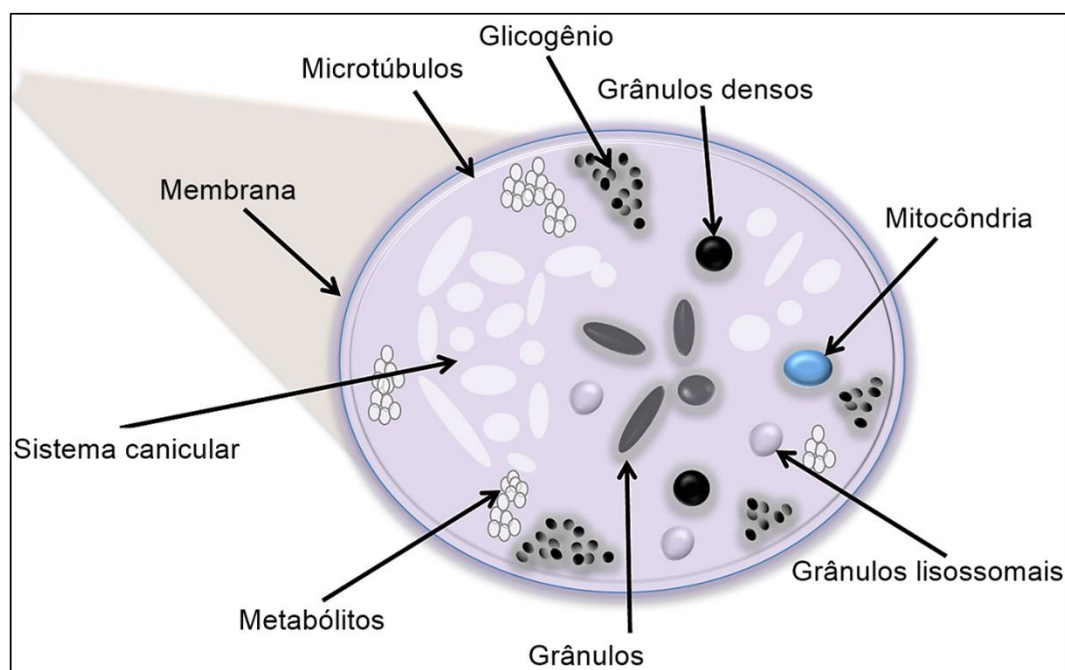
A principal função das plaquetas foi descrita no século de 19 por Bizzozero, que constatou a capacidade das plaquetas em aderir na superfície de vasos sanguíneos lesados e formar agregados, servindo assim como um curativo (“*band-aid*”) para evitar a perda sanguínea excessiva e manter a homeostase do organismo (BREWER, 2006; DE GAETANO; CERLETTI, 2002). Estudos mais recentes têm demonstrado que as plaquetas também possuem funções essenciais em vários outros processos fisiológicos, tais como regulação do tônus vascular, inflamação, trombose e auxiliando o sistema imunológico através da defesa antimicrobiana do hospedeiro (BLAIR; FLAUMENHAFT, 2009).

As plaquetas são originadas a partir dos megacariócitos, células mielóides que constituem apenas 0,1% da população celular da medula óssea. Em um dado momento, estruturas semelhantes a pseudópodes nos megacariócitos se alongam, afinam e se fragmentam diretamente no sangue (como uma erosão) gerando as plaquetas

(ANDREWS et al., 1993; ITALIANO et al., 1999; PATEL; HARTWIG; ITALIANO, 2005).

Morfologicamente, as plaquetas possuem uma bicamada fosfolipídica constituída de colesterol, glicolipídios e glicoproteínas (Figura 11) (THON; ITALIANO, 2012). Ao contrário dos eritrócitos, que internalizam essas moléculas no interior de suas membranas, as plaquetas expõem essas moléculas em sua membrana, sendo assim o local de expressão de receptores envolvidos na sinalização e tráfego intracelular, tais como CD36, CD63, CD9, GPCR, I b IIIa e GLUT-3, receptores também conhecidos por desencadear a liberação de grânulos α presentes no interior das plaquetas, o que acaba ativando diversos processos fisiológicos, como coagulação, inflamação, aterosclerose, defesa antimicrobiana e reparo de feridas (BLAIR; FLAUMENHAFT, 2009; GHOSHAL; BHATTACHARYYA, 2014; HEEMSKERK; BEVERS; LINDHOUT, 2002).

Figura 11 Morfologia plaquetária.



Fonte: ZAPATA et al. (2014)

Na parte interna da membrana plasmática são encontrados fosfolipídios carregados negativamente, como fosfatidilserina e fosfatidilinositol. Estes são

responsáveis por manter a estabilidade da superfície das plaquetas quando estas se encontram em um estado procoagulante (BLAIR; FLAUMENHAFT, 2009; HEEMSKERK; BEVERS; LINDHOUT, 2002; MCNICOL; GERRARD, 1997). Externamente, a membrana plasmática das plaquetas é envolta por uma cobertura de polissacarídeo denominada glicocálice, sendo uma estrutura dinâmica e o primeiro local de contato da plaqueta com o ambiente circundante (GREMMEL; FRELINGER; MICHELSON, 2016). O glicocálice é constituído de receptores que são importantes para o normal funcionamento das plaquetas. Esses receptores ou ativam plaquetas ou atuam como moléculas de adesão, promovendo a interação com o endotélio lesionado e outras plaquetas e leucócitos.

As plaquetas também apresentam um citoesqueleto caracterizado por uma rede citoesquelética baseada em actina, um esqueleto de membrana baseado em espectrina, além de microtúbulos (THON; ITALIANO, 2012). Ao ser ativada, a plaqueta contrai o seu citoesqueleto, adquire uma morfologia esférica e emite os pseudópodes (MCNICOL; GERRARD, 1997). Internamente, as plaquetas possuem dois sistemas de membranas chamados de sistema canicular aberto e sistema tubular denso (BEHNKE, 1970). O primeiro é formado por invaginações da membrana plasmática que formam uma espécie de “túnel” por todo o interior da plaqueta, servindo assim como um mecanismo de entrada de moléculas externas às plaquetas, além de ser um reservatório de membrana que é utilizado na emissão dos pseudópodes durante a ativação plaquetária. Também é através desse sistema que as plaquetas excretam seus produtos (MCNICOL; GERRARD, 1997; MICHELSON, 1992). O segundo sistema é um sistema de canal fechado formado por restos de retículo endoplasmático que não se comunicam com o exterior. É um local de armazenamento de cálcio no interior das plaquetas e acredita que esse sistema sequestre cálcio ionizado (Ca^{2+}) do músculo esquelético (BRASS; HOXIE; MANNING, 1993; THON; ITALIANO, 2012; WHITE, 1972).

O citosol plaquetário é constituído de glicossomos, peroxissomos, lisossomos, mitocôndrias e inclusões tubulares (WHITE, 1972, 2002, 2004). Porém, três organelas secretoras se destacam: os grânulos α , grânulos densos e os lisossomais. Os grânulos α possuem um aspecto que varia do redondo ao oval, medem entre 200 – 500 nm e são as organelas mais frequentes entre as plaquetas, onde cada plaqueta humana pode apresentar em torno de 50 a 80 grânulos α em seu citosol (GREMMEL; FRELINGER;

MICHELSON, 2016; KING; REED, 2002, 2002). Esses grânulos possuem o fator von Willebrand, fatores de coagulação (fator V, XI, XIII), trombospondina, fibrinogênio, fator plaquetário 4 (PF4), β -tromboglobulina, além de fibronectina e vitronectina, ambas moléculas de adesão (BADIMÓN; VILAHUR; PADRÓ, 2009; EVERTS et al., 2006; GREMMEL; FRELINGER; MICHELSON, 2016; THON; ITALIANO, 2012; WHITE, 1968). Os grânulos densos são menores (em torno de 150nm), possuem extensa variabilidade morfológica, além de serem os menos frequentes nas plaquetas (3 – 8 por plaqueta) (BERGER; MASSÉ; CRAMER, 1996). Contêm trifosfato de adenosina (ATP), ADP, serotonina, pirofosfato, cálcio e magnésio (GREMMEL; FRELINGER; MICHELSON, 2016; JANDROT-PERRUS; NURDEN, 2010). Por fim, os grânulos lisossomais possuem entre 200 e 250nm de diâmetro, são esféricos e possuem em torno de 13 hidrolases ácidas, CD63 e catepsina D e E. O papel fisiológico desses grânulos permanece desconhecido (GREMMEL; FRELINGER; MICHELSON, 2016).

1.8.2 Receptores de plaquetas

Alguns dos receptores de superfície plaquetária mais conhecidos são: receptores da família integrinas, receptores ricos em leucinas (LRR – do inglês *Leucine-rich repeats receptors*), receptores de lectina do tipo C, receptores da superfamília de imunoglobulinas, receptores de ADP e ATP, receptores *Toll-Like* (TLR), glicoproteínas (GP), receptores ativados por protease e outros receptores de membrana (Tabela 1). As integrinas normalmente se ligam à matriz extracelular, enquanto as selectinas e os membros da superfamília de imunoglobulinas (IgSF) estão associados à adesão célula-célula (KAMATH; BLANN; LIP, 2001; LANDI; MARQUES JÚNIOR, 2003).

1. Integrinas: as integrinas são grandes heterodímeros que consistem em cadeias α e β (ou subunidades), ligados de forma não covalente, e que juntas formam o receptor intacto na membrana plasmática. Elas são moléculas de adesão e atuam na sinalização das plaquetas e em muitos outros tipos de células (KAMATH; BLANN; LIP, 2001; LANDI; MARQUES JÚNIOR, 2003). Há três tipos de integrinas nas plaquetas, β 1, β 2 e β 3; a família β 1 tem três membros, ou seja, α 2 β 1, α 5 β 1 e α 6 β 1. O receptor α 2 β 1 ou GPIIb/IIIa é um importante receptor de colágeno. Os receptores α 5 β 1 desempenham um papel

complementar nas funções plaquetárias e facilitam a adesão das plaquetas à fibronectina. A integrina $\alpha 6\beta 1$ medeia a adesão plaquetária à laminina, que é encontrada nas membranas basais e na matriz extracelular. A $\alpha L\beta 2$ (CD102) também é conhecida como molécula de adesão intercelular 2 (ICAM-2) e é considerada importante para a adesão das plaquetas aos neutrófilos e também para interação plaqueta-leucócitos (BOUVARD et al., 2001; GEBERHIWOT et al., 1999; PIOTROWICZ et al., 1988; SONNENBERG; MODDERMAN; HOGERVORST, 1988; STAATZ et al., 1989).

A $\alpha IIb\beta 3$ (CD41/CD61), também conhecida como o complexo GPIIb-IIIa, está presente apenas nas plaquetas e é o receptor de adesão plaquetária mais abundante (KAUSKOT et al., 2012). A $\alpha v\beta 3$ é bem abundante nas plaquetas, com 50 a 100 mil cópias desse receptor em sua superfície. Na presença de magnésio ou manganês, os receptores $\alpha v\beta 3$ medeiam a adesão plaquetária à vitronectina, fibrinogênio, vWF, protrombina e trombospondina (PYTELA; PIERSCHBACHER; RUOSLAHTI, 1985, p. 115).

2. Receptores de repetições ricos em leucina (LRR): é uma estrutura proteica composta que repete 20-30 aminoácidos que são ricos em aminoácido hidrofóbico leucina. Os LRR são os receptores mais importantes de plaquetas que incluem o complexo GPIb-IX-V, TLRs e metaloproteinases de matriz (MMP). (KAMATH; BLANN; LIP, 2001; LANDI; MARQUES JÚNIOR, 2003). O complexo GPIb-IX-V é o segundo receptor plaquetário mais comum após a integrina $\alpha IIb\beta 3$, com aproximadamente 50.000 cópias por plaqueta. Complexo GPIb-IX-V é fundamental na iniciação e propagação da hemostasia e da trombose. GPIb-V-IX pode ser considerado como um receptor indireto de colágeno agindo via fator de von Willebrand como molécula de ponte e é essencial para interações plaquetárias com colágeno em altas taxas de cisalhamento (BURKHART et al., 2012).

3. Selectinas: As selectinas são um grupo de receptores que possuem um papel fundamental na adesão plaquetária, sendo representadas pelos receptores das famílias das selectinas (P-selectina ou CD62P), que inclui P-Selectina, receptor tipo C lectina-2 (CLEC-2) e CD72. Dos três, P-selectina e CLEC-2 são importantes e bem entendido. Esses receptores estão presentes não apenas nas plaquetas, mas também em células endoteliais e linfócitos (BERTOZZI et al., 2010; BRASS et al., 2004; FRENETTE et al., 2000; SAKO et al., 1993; SUZUKI-INOUE et al., 2010).

Tabela 1 Receptores de plaquetas

Receptor	Família	Função
$\alpha 2\beta 1$ (CD49b/CD29)	Integrinas	Receptor de colágeno.
$\alpha 5\beta 1$ (CD49e/CD29)	Integrinas	Receptor de fibronectina.
$\alpha 6\beta 1$ (CD49f/CD29)	Integrinas	Receptor de laminina.
$\alpha L\beta 2$ (CD102)	Integrinas	Permite adesão das plaquetas aos neutrófilos e interação com leucócitos.
$\alpha IIb\beta 3$ (CD41/CD61)	Integrinas	Permite a agregação plaquetária.
$\alpha v\beta 3$ (CD51/CD61)	Integrinas	Medeiam a adesão plaquetária à vitronectina, fibrinogênio, vWF, protrombina e trombospondina.
Complexo GPIIb-IX-V	Receptores ricos em leucina	Receptor indireto de colágeno agindo via fator de von Willebrand.
P-Selectina (CD62P)	Receptores de lectina do tipo C	Medeia a adesão plaquetária e interação com leucócitos.
CLEC-2	Receptores de lectina do tipo C	Atua na ativação plaquetária.
CD72	Receptores de lectina do tipo C	Receptor para CD100.
GPVI	Imunoglobulinas	Receptor para colágeno.
PECAM-1	Imunoglobulinas	Molécula de adesão.
P2Y ₁	Receptores de ADP	Receptores para ADP, um agonista de plaquetas.
P2Y ₁₂		
P2X ₁	Receptores de ATP	Receptor para ATP.
TLR1	Receptores <i>Toll-Like</i>	Permite que as plaquetas se liguem a agentes infecciosos e ativam a secreção de citocinas e quimiocinas.
TLR2		
TLR4		
TLR6		
TLR9		
Receptor adrenérgico $\beta 2$	Receptores de membrana	Receptor para epinefrina.
Receptor A _{2a} -Adenosina	Receptores de membrana	Receptor para adenosina
Receptor 5-HT _{2A}	Receptores de membrana	Receptor de serotonina.
PAR-1	Receptores ativados por protease	Receptores para trombina.
PAR-3		
PAR-4		
CD147	Glicoproteínas	Regula as vias de adesão intercelular.

4. Receptores da superfamília das imunoglobulinas: A glicoproteína VI do receptor de colágeno plaquetário é a principal glicoproteína plaquetária. É um membro da superfamília de imunoglobulinas que é uma grande superfamília de proteínas de superfície celular e proteínas solúveis que estão envolvidas no reconhecimento, ligação ou processos de adesão das células (CLEMETSON et al., 1982). Outro receptor tipo imunoglobulina é a molécula de adesão de plaquetas e células endoteliais-1 (PECAM-1; CD31), que usa interações homotípicas para promover contatos entre células endoteliais adjacentes e para mediar a adesão de leucócitos a plaquetas e endotélio (HARJUNPÄÄ et al., 2019).

5. Dentre os demais receptores de membrana encontrados em plaquetas destacam-se aqueles que reagem à ADP e ATP, adenosina, serotonina, epinefrina, trombina e às metaloproteinases de matriz (MMPs), que desempenham um papel na adesão e agregação plaquetária, que incluem MMP-1, 2, 3, 9 e 14. MMP-1 aumenta ativação plaquetária induzida por colágeno mediada por GPVI e $\alpha 2\beta 1$ (BORN, 1962; HOLLOPETER et al., 2001; SEIZER et al., 2010) Os TLR do tipo 1, 2, 4, 6 e 9 estão presentes nas plaquetas em quantidades menores do que o complexo GPIb-IX-V e permitem que as plaquetas se liguem a agentes infecciosos, além sinalizarem para secreção de citocinas e quimiocinas pelas plaquetas (COGNASSE et al., 2005; SHIRAKI et al., 2004).

Os receptores à ADP e a epinefrina são agonistas fracos na agregação plaquetária, em contraste com a trombina e o colágeno. Existem 2 tipos de receptores purinérgicos na membrana plaquetária. Um tipo são os receptores de proteína acoplados ao trifosfato de guanosina, conhecidos como P2Y. O outro tipo de receptor é um receptor de canal iônico chamado P2X1. Esses receptores desempenham um papel fundamental na ativação e agregação plaquetária (AYYANATHAN et al., 1996; SUN et al., 1998, p. 1). O receptor adrenérgico $\beta 2$ é um receptor acoplado à proteína G (GPCR) associado à proteína G heterotrimérica G_i . Consiste em três subtipos altamente homólogos, incluindo $\alpha 2A$ -, $\alpha 2B$ - e $\alpha 2C$ -adrenérgico. Algumas espécies que não os humanos também expressam um quarto receptor $\alpha 2D$ -adrenérgico. Catecolaminas como norepinefrina (noradrenalina) e epinefrina (adrenalina) sinalizam através do receptor $\alpha 2$ -adrenérgico no sistema nervoso central e periférico. Estudos clínicos demonstraram que a resposta plaquetária à epinefrina e ADP está associado com a incidência de infarto do miocárdio não fatal, morte súbita cardíaca e isquemia miocárdica, de modo que o aumento da agregação plaquetária

possa contribuir para o aparecimento desses eventos cardiovasculares (BORN, 1962; CARON et al., 1988; WILLICH et al., 1992).

Os receptores de trombina nas plaquetas pertencem à família de receptores ativados por protease (PAR – do inglês *protease-activated receptors*) que incluem PAR-1, 2, 3 e 4 e possuem um mecanismo de ativação único que envolve a clivagem do domínio extracelular N-terminal, criando assim um novo N-terminal que atua como um ligante amarrado para o receptor. Os receptores de trombina são os principais representantes do grupo de receptores de sete transmembranas nas plaquetas, porque a trombina é um agonista plaquetário crítico. Um sistema de sinalização de plaquetas com dois receptores são os sistemas de receptores primários e existe em humanos (PAR1 e PAR4). O PAR3 é o mediador primário da sinalização da trombina, enquanto o PAR4 desempenha um papel como receptor “secundário” em plaquetas de camundongos (FURMAN et al., 1998; VU et al., 1991; XU et al., 1998).

1.8.3 Plaqueta como objeto desse estudo

As plaquetas têm um papel multifuncional, como elemento imunológico e inflamatório. As plaquetas colaboram ativamente nas respostas inflamatórias e reações imunológicas através da interação com os leucócitos na corrente sanguínea, além da interação com células endoteliais e excreção de mediadores inflamatórios que recrutam mais leucócitos mais para a região inflamada (KARSHOVSKA; WEBER; VON HUNDELSHAUSEN, 2013; SEMPLE; ITALIANO; FREEDMAN, 2011; VON HUNDELSHAUSEN; WEBER, 2007; WEYRICH; ZIMMERMAN, 2004)(ASSINGER, 2014)(BOZZA et al., 2009; MASON et al., 2007). Mas também elas podem contribuir na progressão de patologias, tais como angiogênese e progressão tumoral e mais metástase (GARRAUD; COGNASSE, 2015)(OLIVEIRA, 2013).

No contexto da infecção pelo HIV, a ativação plaquetária parece ser capaz de impedir que o vírus infecte células T. Além disso, os grânulos presentes no citosol das plaquetas podem suprimir a disseminação do vírus entre células T, contribuindo assim

para um controle, mesmo que parcial, na replicação e propagação sistêmica do vírus no organismo (SOLOMON TSEGAYE et al., 2013).

Recentemente, um estudo com PVHIV mostrou o quadro de síndromes respiratórias como a comorbidade mais prevalente. A grande maioria dos pacientes apresentavam contagens de T CD4 abaixo de 350 células/mL e a taxa de mortalidade foi de 20,5%. Tuberculose pulmonar, neurotoxoplasmose e candidíase orofaríngeo-esofágica foram as infecções oportunistas mais prevalentes. Tuberculose e perda de peso foram mais prevalentes em PVHIV que evoluíram ao óbito. A análise de Mann Whitney mostrou que aqueles que morreram tinham valores maiores de parâmetro de largura de distribuição de plaquetas (PDW) na admissão, o que é sugestivo de ativação plaquetária.

Segundo o estudo, o papel da ativação plaquetária em piores desfechos de hospitalização associada ao contexto de imunossupressão avançada podem ser marcadores promissores na predição de mortalidade em PVHIV (GAMA et al., 2021). Todavia, em condições infecciosas e inflamatórias, as plaquetas ativadas podem apresentar uma resposta secretória de uma forma não usual, adquirindo assim um perfil mais patogênico, pois acaba exacerbando a resposta inflamatória.

Em suma, as plaquetas têm se demonstrado cada vez mais elementos sanguíneos cruciais para a manutenção da homeostase de um organismo, não se limitando apenas à manutenção da hemostasia. Através de seu armamento interno e externo de mediadores pró-inflamatórios, somado aos receptores de superfície envolvidos em processos inflamatórios e imunológicos, as plaquetas são agentes hoje essenciais em processos inflamatórios e respostas imunes adquiridas e inatas (BOZZA et al., 2009; GARRAUD; COGNASSE, 2015; SEMPLE; ITALIANO; FREEDMAN, 2011). Assim, investigar o papel das plaquetas, seja ele patogênico ou imunológico, é essencial para a compreensão da dinâmica fisiológica em que as plaquetas estão inseridas (GARRAUD; COGNASSE, 2015).

2. JUSTIFICATIVA

A infecção pelo HIV é caracterizada por uma alteração quali-quantitativa nas células do sistema imunológico e que podem refletir em diminuição ou aumento na contagem de plaquetas, caracterizados como trombocitopenia e trombocitose, respectivamente. O envolvimento direto das plaquetas na patogênese do HIV tem sido relatado por estudos que mostraram associações entre alterações na contagem de plaquetas e/ou marcadores de ativação plaquetária com a progressão da doença pelo HIV. Portanto, é importante avaliar os índices de contagem e de ativação plaquetários em durante a hospitalização como possíveis marcadores de desfechos clínicos na infecção pelo HIV.

As plaquetas demonstram alterações decorrentes de uma inflamação sistêmica. Alguns índices plaquetários estão associados ao estado inflamatório. Como os índices plaquetários são marcadores simples do hemograma, a investigação em PVHIV hospitalizadas pode resultar em associações que refletem o estado de saúde ao longo da internação. Em virtude desta problemática, este trabalho se propôs investigar as alterações plaquetárias em PVHIV internados na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD). Os resultados encontrados indicaram que, na admissão hospitalar, a frequência de plaquetas ativadas estão alteradas e com a evolução para a alta essa frequência se reduz. Os resultados desse trabalho mostraram que a imunofenotipagem dessas plaquetas ativadas podem ser exploradas como biomarcadores no auxílio aos médicos no acompanhamento durante a hospitalização.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar alterações plaquetárias como biomarcadores aos desfechos de hospitalização em PVHIV atendidos na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD).

3.2 Objetivos Específicos

- (1). Avaliar a morfologia das plaquetas pelos índices plaquetários de hemograma na admissão e em segundo ponto de coleta entre terceiro e sétimo dia de internação;
- (2). Comparar os índices plaquetários MPV e PDW em relação a trombocitopenia e critérios de gravidade hospitalar;
- (3). Quantificar subpopulações de plaquetas ativadas pela fenotipagem em citometria de fluxo na admissão e em segundo ponto de coleta entre terceiro e sétimo dia de internação a fim de avaliar como ferramenta no monitoramento de gravidade da infecção.

4. ESTRATÉGIAS METODOLÓGICAS

4.1 Considerações éticas

O presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da FMT – HVD sob o número de parecer 3.345.985 e CAAE 89665118.6.0000.0005 (Anexo 1).

4.2 Tipo, população, local de estudo e desenho experimental

Trata-se de um estudo prospectivo e longitudinal cuja população alvo foi PVHIV internados na FMT-HVD. O desenho experimental foi elaborado para avaliar os índices plaquetários como preditores de desfechos clínicos de PVHIV. A seleção foi por conveniência e independente da taxa de CD4 e da carga viral de HIV. Inicialmente, o estudo coletou dados gerais na admissão, tais idade, uso de TARV, carga viral e os índices plaquetários, e os comparou com os desfechos óbito versus. Os pacientes foram classificados posteriormente entre pessoas em uso regular de TARV (em função da carga viral indetectável ou abaixo de 60 cópias), pessoas virgens de tratamento e pessoa em falha terapêutica que usam a TARV de forma irregular por causa das cargas virais detectáveis. Em relação aos marcadores de plaquetas, aspectos morfológicos plaquetários foram obtidos no hemograma (contagem, MPV e PDW) e marcador de ativação foi obtido pela imunofenotipagem em citometria de fluxo com anti-CD62. O estudo comparou esses marcadores na população de estudo separada em relação i) ao uso de TARV, ii) apresentar trombocitopenia ou não, iii) apresentar sinais de gravidade. A etapa parte longitudinal do estudo envolveu uma segunda coleta de sangue. A etapa longitudinal do estudo comparou a frequência de plaquetas ativadas CD62+ em dois pontos (o 1º na admissão e a 2º coleta foi realizada entre terceiro e sétimo dia de internação) entre os pacientes classificados de acordo com a trombocitopenia e de acordo com a gravidade da internação.

4.3 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos no estudo PVHIV internados na FMT-HVD com faixa etária entre 18 e 70 anos de ambos os sexos.

Foram excluídos pacientes infectados pelo vírus das hepatites B e C, uma vez que tal infecção colabora para um prognóstico pior do paciente, podendo assim interferir na confiabilidade total dos resultados. Pacientes soropositivos para o vírus linfotrópico humano (HTLV) também foram excluídos devido à similaridade patogênica deste vírus com o vírus HIV. Pacientes com púrpura trombocitopênica idiopática, síndrome de Guillain-Barré e usuários de anti-hipertensivos também foram excluídos, uma vez que estas condições e seus tratamentos afetam naturalmente a atividade plaquetária, o que poderia interferir nos resultados esperados do trabalho.

4.4 Critérios de gravidade

Definimos a gravidade da infecção como um determinante de evolução clínica. Para isso foram considerados critérios de gravidade desidrogenase láctica (LDH) maior ou igual a 1000 UI/L, ferritina acima de 400 mg/mL para homens e de 150 mg/mL para mulheres; uso de suporte ventilatório, necessidade de internação na unidade de terapia intensiva (UTI), uso de drogas vasoativas (noradrenalina, adrenalina, dopamina, dobutamina) e óbito. A gravidade foi definida pela presença de pelo menos um desses critérios.

4.5 Classificação dos perfis dos pacientes em relação ao uso de TARV

Classificamos os pacientes em três perfis de acordo com o uso de TARV: (1) uso regular, onde o paciente apresentava carga viral indetectável; (2) falhado, onde o paciente apresentava carga viral detectável; e (3) virgem de tratamento.

4.6 Coleta de dados e de amostras biológicas

As PVHIV internados na FMT-HVD foram abordadas no pronto atendimento e convidados para a participação no estudo. Após o aceite, foi pedido para que assinassem

o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), bem como para que respondessem a um questionário (Anexo 2) com dados sobre características sociodemográficas. Posteriormente, informações clínicas dos indivíduos do estudo foram coletadas através do acesso ao prontuário médico dos pacientes, tais como: comorbidades, hemograma, carga viral, contagem de células T CD4+ e T CD8+, dados bioquímicos e desfecho clínico final.

Para cada paciente, foram coletados 15mL de sangue, sendo este volume distribuído em tubos de 5mL, seguindo a respectiva ordem: 1 tubo seco e 2 tubos contendo citrato de sódio. Ao fim da coleta, as amostras foram transportadas para o laboratório do Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, onde foram processadas para a imunofenotipagem plaquetária.

4.7 Processamento das amostras

As amostras em tubos secos foram centrifugadas a 3.500RPM durante 5 minutos a 25°C para obtenção do soro e aliqüotadas para análise futura de marcadores inflamatórios e foram armazenadas a -80°C.

As amostras de sangue dos tubos com citrato de sódio foram centrifugadas a 800 x g durante 5 minutos a 25°C e os sobrenadantes obtidos foram centrifugados novamente a 580 x g durante 20 minutos a 25°C, gerando o plasma rico em plaquetas (PRP) (SHIGA, *et al.*, 2017).

Logo após a obtenção do PRP, Prostaglandina E₁ foi adicionado à amostra para prevenir a ativação plaquetária. Feito isso, a amostra foi centrifugada a 500 x g durante 20 minutos a 25°C. O sobrenadante foi removido e as plaquetas foram ressuspensas em tampão PSG + PGE₁. Após outra centrifugação, o sobrenadante foi desprezado e as plaquetas ressuspensas em tampão PSG + PGE₁, seguido de homogeneização até dissolução total do pellet, com a obtenção de 2mL de plaquetas para imunofenotipagem plaquetária.

As plaquetas isoladas foram estimuladas com 500µL de adrenalina (Hipolabor 1mg/mL) por 45 minutos. Em seguida, foi realizada a imunofenotipagem das plaquetas

utilizando o anticorpo monoclonal para receptores constitutivos (CD41) e indutivos (CD62P) para análise de ativação plaquetária.

4.8 Leitura e análise das amostras

A leitura e análise dos testes foram feitas utilizando o Citômetro de Fluxo FACSCanto II (Becton, Dickinson, USA) e o programa Flow-Jo.

4.9 Análise estatística

As análises dos testes foram obtidas no programa Flow-Jo. Quando a comparação foi realizada entre dois grupos foi aplicado o teste T não paramétrico de Mann Whitney. Quando a comparação envolveu três grupos, as comparações múltiplas foram realizadas pelo Anova com teste de Kruskal-Wallis. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$ e intervalo de confiança de 95%.

5. RESULTADOS

5.1 Características da população

O estudo incluiu um total de 44 PVHIV internados. Em relação ao sexo, 68,18% dos indivíduos eram do sexo masculino (n=30), 24 (77,4%) tiveram alta e 7 (22,6%) foram à óbito (Tabela 2). Quatorze eram do sexo feminino (31,82%), dos quais 13 (92,8%) tiveram alta e um (7,2%) foi à óbito. A idade não foi um fator de predisposição ao óbito, visto que a média e o desvio padrão dos pacientes que receberam alta foi $40,27 \pm 11,98$ e $39,58 \pm 9,11$ dos que foram à óbito, com a idade variando entre 20 e 77 anos.

Quanto ao uso da TARV, 16 (36,4%) pacientes internados relataram fazer o uso da TARV, sendo 13 com uso regular e um irregular (Tabela 2). Em contraste, 21 pacientes (47,7%) relataram não fazer o tratamento com a TARV, seja por abandono ou virgem de tratamento.

A carga viral (CV) dos pacientes internados também foi avaliada. Dos pacientes que tiveram alta, 12 (27,3%) tiveram sua CV indetectável, enquanto 24 (54,5%) desses pacientes tiveram uma CV >50 (Tabela 2). Em relação aos pacientes com desfecho clínico óbito, 2 (4,5%) tinham CV indetectável, bem como o mesmo valor em relação a cópias acima de 50. Já em relação a contagem de linfócitos T CD4+, os indivíduos que receberam alta apresentaram uma contagem média de linfócitos CD4 de $204,83 \pm 285,52$, enquanto os que evoluíram ao óbito apresentaram o valor de $195,59 \pm 303,85$ (Tabela 2).

A ativação plaquetária está diretamente relacionada com a patogênese da infecção pelo HIV. A avaliação da função e ativação plaquetária na infecção pelo HIV pode ser dada através dos valores de índices plaquetários, como o MPV e PDW. O volume plaquetário médio (MPV) entre os pacientes que receberam alta e os que foram ao óbito foi de $7,56 \pm 1,70$ fl e $7,39 \pm 1,63$ fl e nos dois grupos foi observada uma redução nos valores de MPV, sendo o grupo alta com n=15 (40,5%) de redução e o grupo óbito com 4 (57,14%) (Tabela 2).

Já em relação aos valores médios do índice *Platelet Distribution Width* (PDW), foi observado que todos os pacientes apresentaram PDW elevado (Tabela 2). Por fim, em relação aos valores médios do plaquetócrito (PCT), foi observada uma semelhança de valores tanto no desfecho alta quanto no desfecho óbito: $0,13 \pm 0,06\%$. Foi observado

também uma redução nos valores de PCT no grupo alta, com 27,02% (n=10), e no grupo óbito, com 28,57% (n=2).

Em relação às características gerais da nossa população, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os pacientes que evoluíram para o óbito e aqueles que receberam alta como desfecho clínico.

Tabela 2: Características gerais da população

	Alta (n=37)	Óbito (n=7)	p
Idade (média±DP)	40,27±11,98	39,58±9,11	0.9872
Sexo			
Masculino	24 (64,86%)	6 (85,71%)	0.4013
Feminino	13 (35,14%)	1 (14,29%)	
TARV			
Uso regular (CV indetectável)	16 (40,00%)	5 (71,43%)	0.2327
Falhado (CV detectável)	17 (42,50%)	1 (14,20%)	
Virgem de tratamento	7 (17,50%)	1 (14,20%)	
Carga viral	407800±744500	300600±425000	0.7850
Indetectável	12 (32,43%)	2 (28,57%)	
>50	24 (64,86%)	2 (28,57%)	
Sem resultado	1 (2,70%)	3 (42,86%)	
CD4 (cel/μL)	204,83±285,52	195,59±303,85	0.2651
Plaquetas (/mm³)	189284,32±102990,49	194391,21±111135,41	0.9744
Trombocitopenia (<150000/mm³)	13 (35,14%)	3 (42,86%)	0.8930
Trombocitose (>450000/mm³)	0	2 (28,57%)	-
MPV (fl)	7,56±1,70	7,39±1,63	0.6766
Baixo (<7.0 fl)	15 (40,54%)	4 (57,14%)	0.5157
Elevado (>10.0 fl)	5 (13,51%)	2 (28,57%)	1.0000
PDW (%)	20,40±1,45	20,17±1,36	0.4903
Baixo (<10%)	0	0	-
Elevado (>18%)	37 (100,0%)	7 (100,0%)	0.4903
PCT (%)	0,13±0,06	0,13±0,06	0.9488
Baixo (<0,1%)	10 (27,02%)	2 (28,57%)	0.9091
Elevado (>0,5%)	0	0	-

5.2 Análise dos índices plaquetários com perfis de uso de TARV

Analisamos a contagem de plaquetas e valores de MPV e PDW em relação aos perfis de uso de TARV apresentados pelos pacientes (Figura 12). Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nas análises.

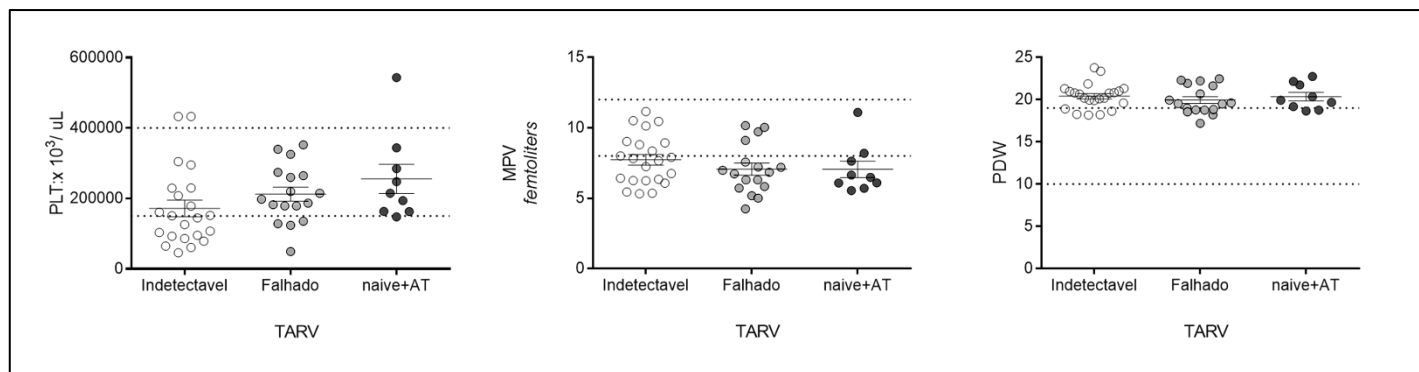


Figura 12 Análise dos índices plaquetários com a contagem e frequência de plaquetas. A: Comparação do MPV em pacientes HIV+ com e sem trombocitopenia. B: Comparação de PDW em pacientes HIV+ com e sem trombocitopenia. C: Correlação da frequência de plaquetas com o MPV de pacientes HIV+ com trombocitopenia. D: Correlação da frequência de plaquetas com o MPV em pacientes HIV+ com trombocitose. E: Correlação da frequência de plaquetas com o PDW em pacientes HIV+ com trombocitopenia. F: Correlação da frequência de plaquetas com o PDW em pacientes HIV+ com trombocitose.

5.3 Índices plaquetários e Trombocitopenia

A infecção pelo HIV está associada a uma série de anormalidades hematopoiéticas e a trombocitopenia, em duas ou mais contagens consecutivas, é uma condição frequentemente observada em indivíduos infectados pelo HIV, independente do status da infecção, do sexo ou da idade (MIGUEZ-BURBANO; JACKSON; HADRIGAN, 2005a). Os índices plaquetários MPV e PDW são marcadores inespecíficos de ativação plaquetária. O MPV reflete o tamanho médio das plaquetas e através dele é possível medir a taxa de produção de plaquetas, enquanto o PDW nos fornece a informação de quão uniforme estão as plaquetas em tamanho. Por essa razão, a aplicação de imunofenotipagem de plaquetas com anticorpos específicos contra as glicoproteínas CD41 e CD42 foram avaliadas por citometria de fluxo. Primeiramente, os índices plaquetários foram comparados entre pacientes com e sem trombocitopenia.

Por meio da aplicação do teste T de Mann Whitney observou-se que a maioria dos pacientes apresentou valores de MPV abaixo da faixa de normalidade. Entretanto, os pacientes trombocitopênicos apresentaram um aumento significativo no índice de MPV ($p=0.0065$) em relação aos pacientes não trombocitopênicos (Figura 13A). Sugerimos com este achado que, em virtude da maioria dos pacientes estarem apresentando índices de MPV abaixo da faixa de normalidade, possivelmente esteja havendo um problema de produção de plaquetas pela medula óssea, onde esta última estaria produzindo um nível elevado de plaquetas jovens. As plaquetas jovens são grandes em tamanho e isto poderia

ser a causa de um MPV abaixo da faixa de normalidade entre os pacientes. Além disso, o aumento significativo de MPV entre os pacientes trombocitopênicos em relação aos não trombocitopênicos nos sugere que, uma vez que os pacientes começam a desenvolver um quadro de trombocitopenia, há uma destruição periférica de suas plaquetas, o que levaria a medula óssea a uma produção excessiva de plaquetas jovens para compensar a destruição periférica das plaquetas.

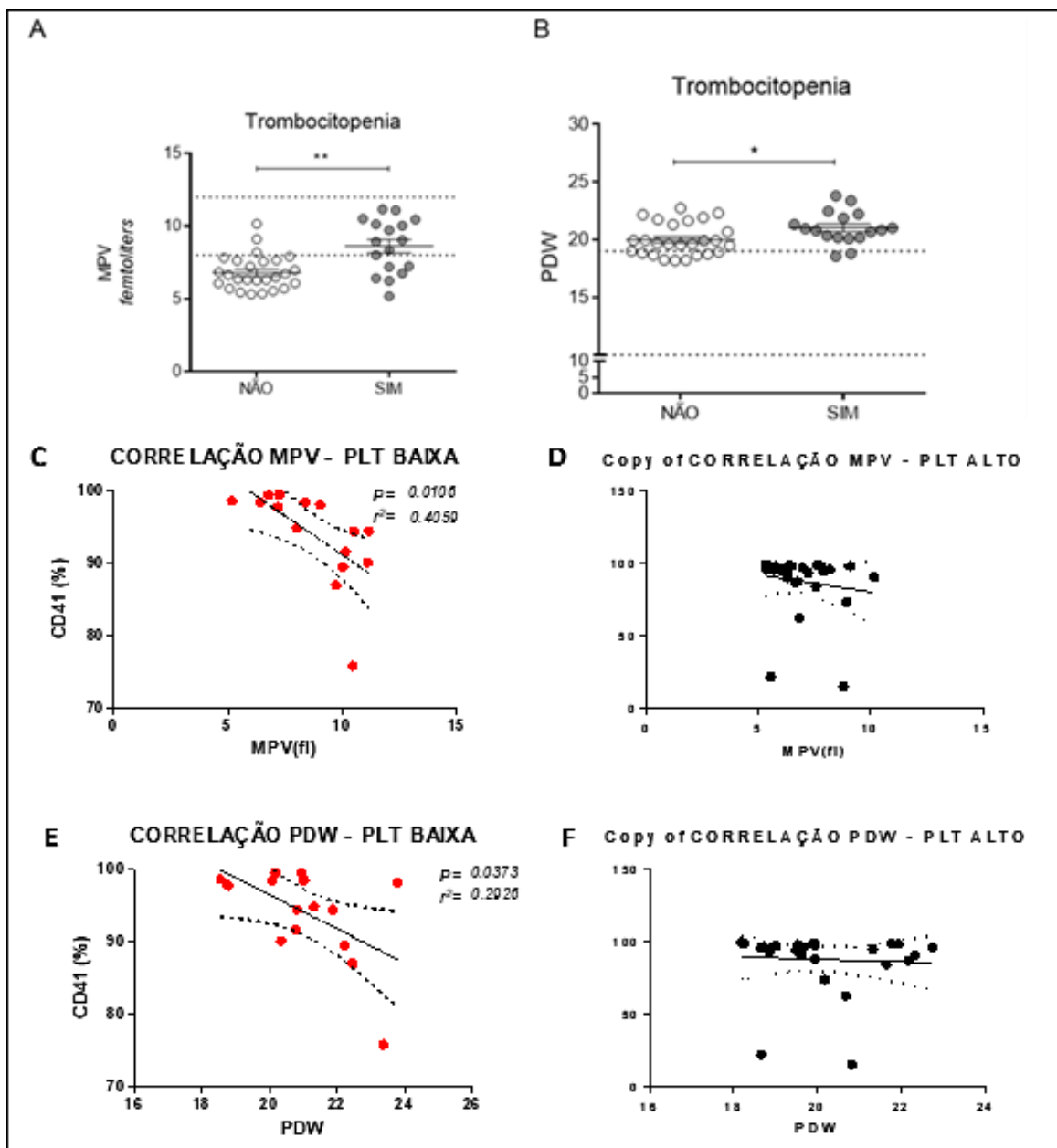


Figura 13 Análise dos índices plaquetários com a contagem e frequência de plaquetas. A: Comparação do MPV em pacientes HIV+ com e sem trombocitopenia. B: Comparação de PDW em pacientes HIV+ com e sem trombocitopenia. C: Correlação da frequência de plaquetas com o MPV de pacientes HIV+ com trombocitopenia. D: Correlação da frequência de plaquetas com o MPV em pacientes HIV+ com trombocitose. E: Correlação da frequência de plaquetas com o PDW em pacientes HIV+ com trombocitopenia. F: Correlação da frequência de plaquetas com o PDW em pacientes HIV+ com trombocitose.

Em relação ao PDW, foi observado que a maioria dos pacientes apresentou valores dos índices acima da faixa de normalidade (Figura 13B). Além disso, os pacientes trombocitopênicos apresentaram um aumento significativo nos índices de PDW ($p=0.0174$) em comparação aos pacientes não trombocitopênicos. Em virtude do PDW ser um marcador de ativação plaquetária, esses dados nos sugere que os pacientes trombocitopênicos apresentaram níveis maiores de ativação plaquetária em relação aos não trombocitopênicos.

Os valores de MPV e PDW dos pacientes trombocitopênicos e não trombocitopênicos foram analisados com a imunofenotipagem das plaquetas. Foi observado uma correlação negativa entre MPV e a frequência de plaquetas (Figura 13C-D). Os valores de PDW também foram correlacionados negativamente com a frequência de plaquetas (Figura 13E-F). Esses dados mostraram que, somente nos pacientes trombocitopênicos, a redução da frequência de plaquetas esteve correlacionada com aumento da ativação plaquetária, em razão dos aumentos de MPV e PDW.

Esses dados validam, primeiramente, a aplicação de uso da imunofenotipagem para a busca de um marcador específico de ativação plaquetária como pôde ser visto nas Figuras 13C a 13F. Embora os índices de MPV e PDW sejam inespecíficos, as correlações da imunofenotipagem com os aumentos de MPV e PDW indicam que alguma resposta leva a ativação plaquetária quando a contagem de plaquetas fica abaixo de $150 \times 10^3/\text{mm}^3$.

O receptor CD62 é o marcador específico de ativação plaquetária utilizado nas imunofenotipagens em citometria. Ao mesmo tempo esse receptor é uma molécula de adesão do tipo selectina. Visando avaliar se a trombocitopenia alterava as subpopulações plaquetárias CD62+, nós comparamos a quantidade e o nível de expressão desse receptor pela medida da média de intensidade de fluorescência (MIF) entre os pacientes trombocitopênicos e não trombocitopênicos (Figura 14). Ambos os parâmetros não tiveram alteração com as amostras coletadas no dia de admissão, indicando que o estado de ativação plaquetária independia da contagem de plaquetas. Logo, no momento da admissão hospitalar por parte dos pacientes, ter ou não o quadro de trombocitopenia não está relacionado com aumento de ativação plaquetária.

Quando os mesmos parâmetros foram avaliados alguns dias depois, entre o 3º e 7º dias de internação, foi verificado que a frequência de plaquetas ativadas reduziu

significativamente entre os pacientes não trombocitopênicos, enquanto a quantidade de plaquetas não reduziu nos pacientes trombocitopênicos, apresentando um leve aumento nesse intervalo de tempo (Figura 15 A e B). O nível de expressão do receptor CD62 calculado pela média de intensidade de fluorescência não diferiu na admissão e dias após hospitalização em ambos os grupos de pacientes (Figuras 15C e D). Se a redução da ativação plaquetária é ou não uma melhor evolução da hospitalização dos pacientes não-trombocitopênicos, isso merece uma análise mais específica.

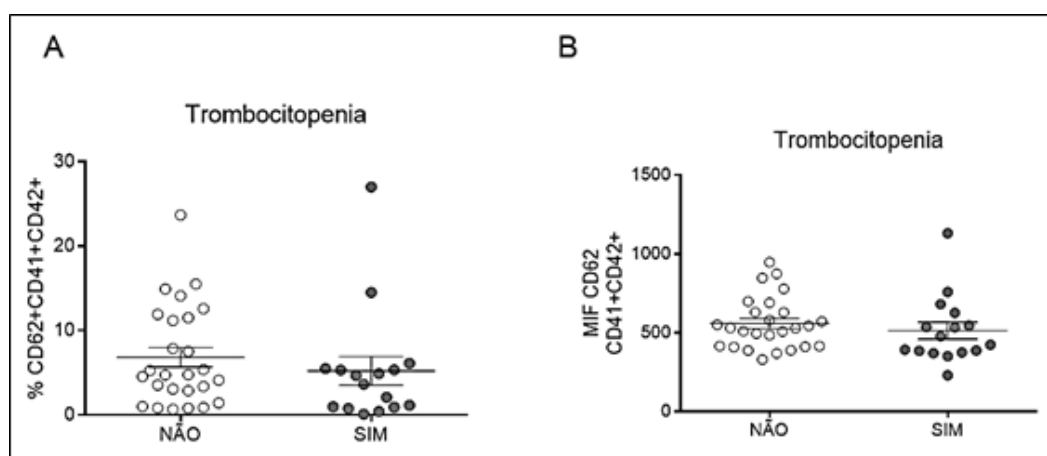


Figura 14 Análise da quantidade e nível de expressão do receptor CD62 através da média de intensidade de fluorescência (MIF) entre pacientes HIV+ trombocitopênicos e não trombocitopênicos. A: Porcentagem de expressão do receptor CD62 entre pacientes trombocitopênicos e não trombocitopênicos. B: Média da intensidade de fluorescência (MIF) de CD62 entre pacientes trombocitopênicos e não trombocitopênicos.

5.3 Análise dos índices plaquetários com gravidade da infecção

O estudo de Gama e colaboradores (2021) mostrou que os pacientes que foram a óbito tinham um aumento de PDW no momento da admissão. Nesse estudo, sete pacientes foram a óbito e nenhum dos marcadores plaquetários diferiu em relação aos que tiveram alta. Definimos a gravidade da infecção como um determinante de evolução clínica. Os pacientes foram classificados em gravidade quando eles apresentavam pelo menos um dos critérios definidos no material e métodos. Nós comparamos se a presença de um critério de gravidade levou a uma extensão maior no tempo de internação, e se trombocitopenia contribuía ou não para gravidade e tempo de internação (Figura 16).

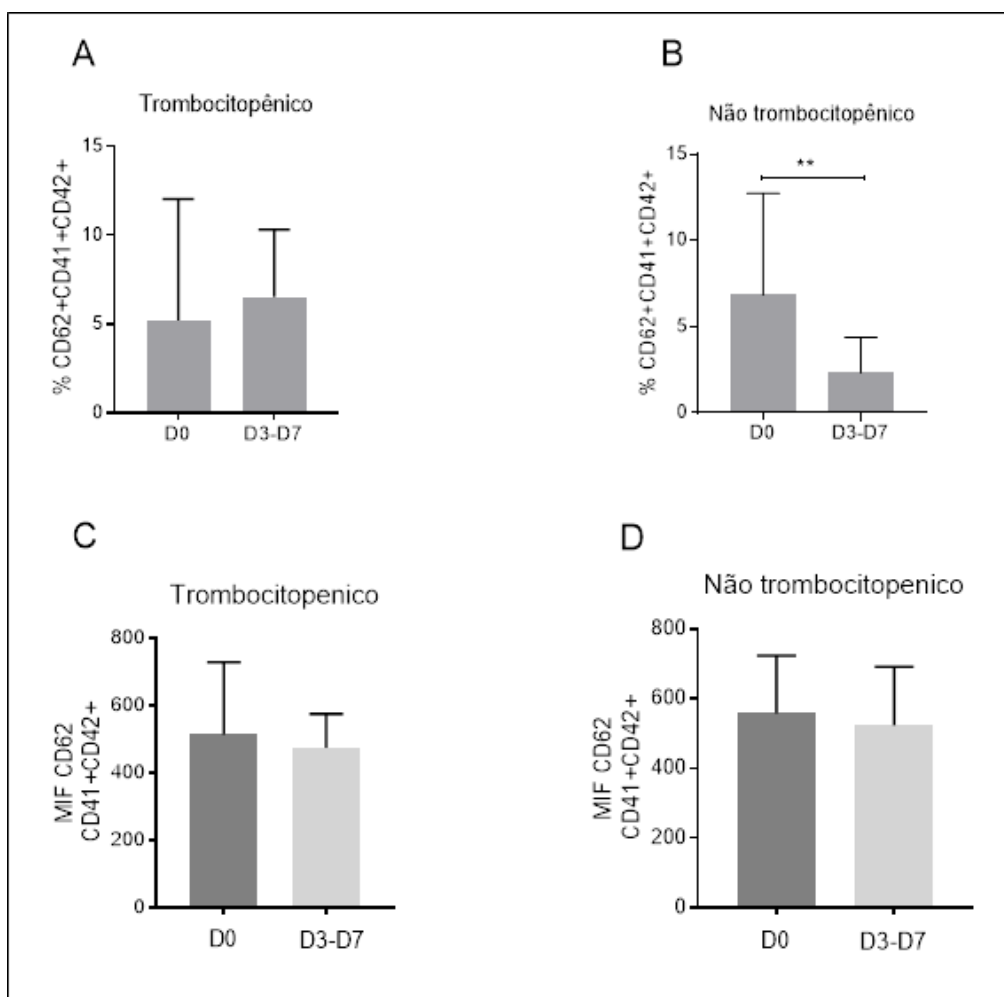


Figura 15 Análise da quantidade e nível de expressão do receptor CD62 através da média de intensidade de fluorescência (MIF) entre pacientes HIV+ trombotocitopênicos e não trombotocitopênicos em D0 em comparação com D3 e D7. A: Porcentagem de expressão do receptor CD62 em pacientes trombotocitopênicos. B: Porcentagem de expressão do receptor CD62 em pacientes não trombotocitopênicos. C: Média da intensidade de fluorescência (MIF) de CD62 em pacientes trombotocitopênicos. D: Média da intensidade de fluorescência (MIF) em pacientes não trombotocitopênicos.

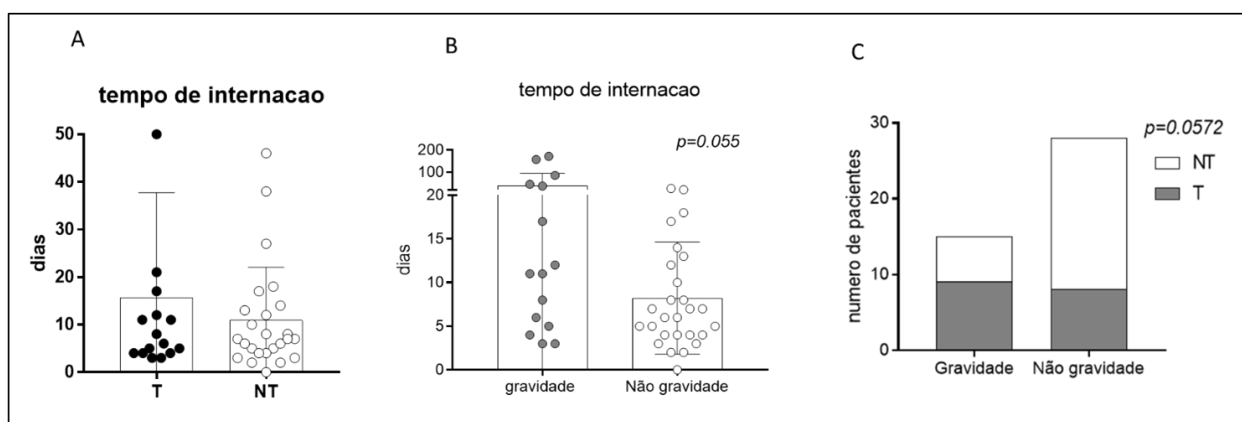


Figura 16 Análise da relação de tempo de internação com presença de trombotocitopenia e algum critério de gravidade entre pacientes HIV+. A: Tempo de internação e sua relação com a presença ou ausência de trombotocitopenia. B: Tempo de internação e sua relação com a presença de pelo menos um critério de gravidade. C: Relação de presença ou ausência de gravidade entre os pacientes HIV+ em relação a presença ou ausência de trombotocitopenia.

Apresentar trombocitopenia não levou a um tempo de internação maior (Figura 16A). Ter mostrado pelo menos um dos critérios de gravidade mostrou uma tendência a um tempo médio de internação maior em relação a quem foi hospitalizado sem gravidade ($p=0.055$; Figura 16B). Provavelmente, a não diferença estatística observada tenha sido devido o pequeno número amostral. Em relação a trombocitopenia, a maior parte dos pacientes hospitalizados sem gravidade eram não-trombocitopênicos (Figura 16C).

Embora estatisticamente essa relação não tenha sido significativa ($p=0.0572$), devido também ao número amostral limitado, o fato é que, no momento da admissão, a proporção de trombocitopênicos acontece de forma semelhante tanto em pacientes com gravidade quanto naqueles sem gravidade.

Como a classificação trombocitopenia é baseada quantitativamente, isto é, ter número de plaquetas acima ou abaixo de 150×10^3 plaquetas/mL, nós comparamos os valores quantitativos dos índices plaquetários em relação a gravidade (Figura 17). Agora, observamos que, embora as contagens plaquetárias da maioria dos pacientes estivessem dentro da faixa de normalidade, independentemente da gravidade, os pacientes graves tinham quantidades menores de plaquetas ($p=0.0123$) (Figura 17A).

Em relação aos índices plaquetários, os valores de MPV não diferiram (Figura 17B). Vale destacar que muitos pacientes apresentavam valores de MPV abaixo da faixa de normalidade. Se verifica um problema de base na produção de plaquetas de origem medular, independentemente da gravidade do estado do paciente durante a hospitalização.

Os valores de PDW mostraram, primeiramente, que quase a totalidade dos pacientes apresentavam acima da normalidade (Figura 17C). Em segundo, os pacientes com gravidade mostraram maior ativação plaquetária do que os não graves ($p=0.0265$).

Também foi avaliada a expressão da glicoproteína CD62P, um receptor indutivo de plaquetas que possui papel fundamental nos mecanismos fisiológicos envolvidos na atividade plaquetária. A análise da expressão desta molécula permite avaliar os níveis de ativação plaquetária entre os pacientes internados. Contudo, a avaliação da frequência de plaquetas ativadas CD62P+ e a expressão da glicoproteína CD62P por plaquetas (MIF) não indicaram diferenças em relação a ser grave ou não (Figura 17D-E).

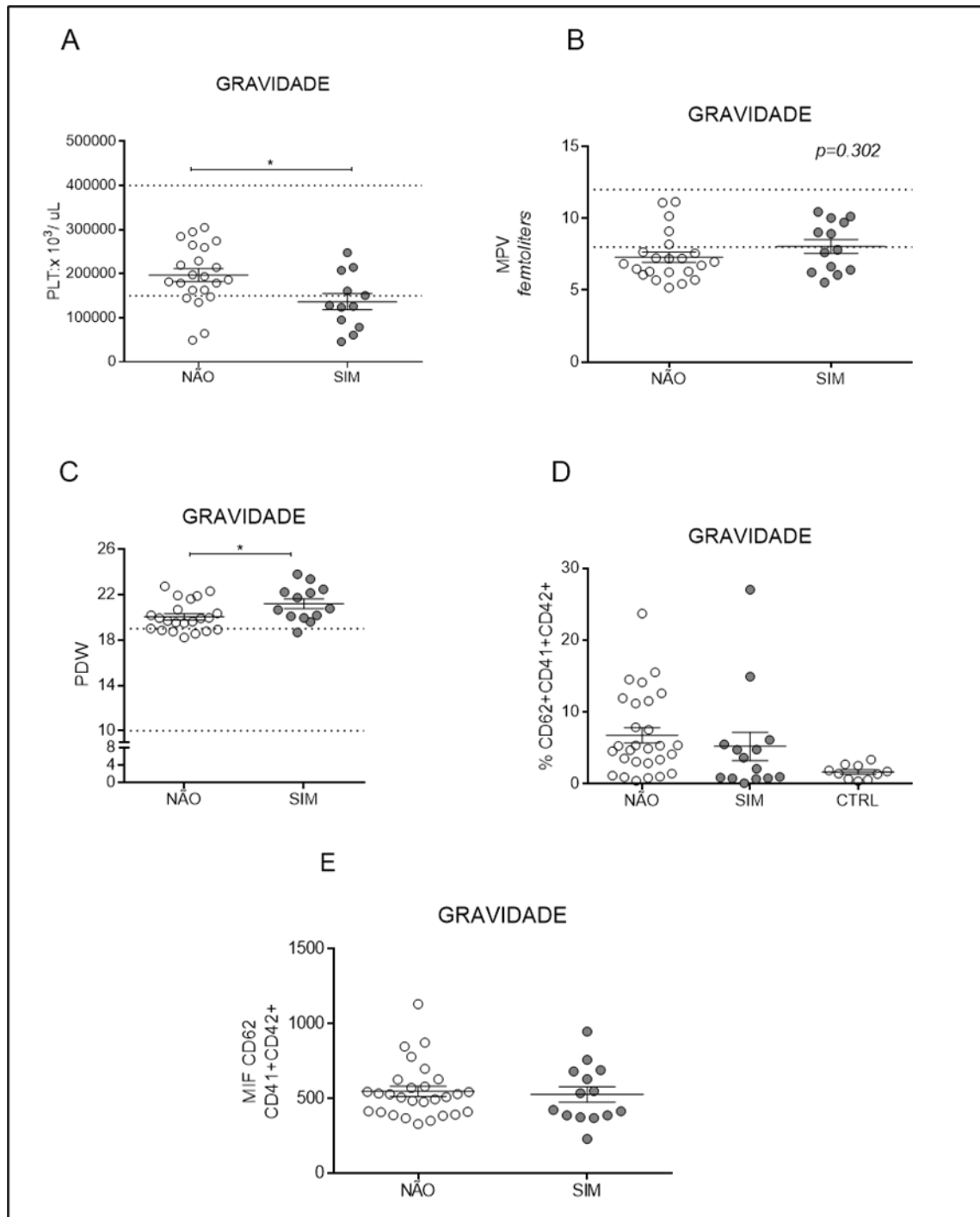


Figura 17 Análise da comparação de contagem de plaquetas, índices plaquetários, expressão de CD62 e MIF em relação à gravidade em pacientes HIV+. A: Relação entre contagem de plaquetas e gravidade de infecção. B: Relação entre MPV e gravidade de infecção. C: Relação entre PDW e gravidade de infecção. D: Relação entre expressão de CD62 e gravidade de infecção. E: Relação entre MIF e gravidade de infecção.

Quando a frequência de plaquetas ativadas CD62P foi avaliada alguns dias depois, entre o 3º e 7º dias de internação, foi verificado que não houve alterações no nível

de expressão do receptor CD62 por plaqueta em pacientes graves (Figura 18A) No entanto, a frequência de plaquetas ativadas reduziu nos pacientes não graves ($p=0.0328$) (Figura 18B).

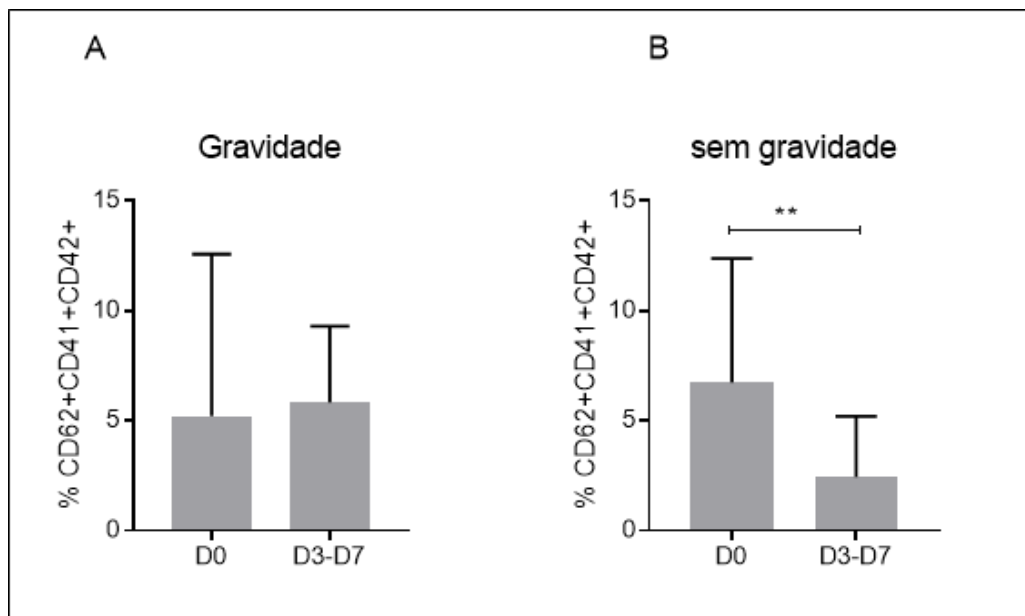


Figura 18 Frequências de plaquetas CD62P e sua expressão por MIF em relação à gravidade da infecção. A: Frequência de plaquetas CD62P em pacientes com gravidade entre D0 e D3-D7. B: Frequência da expressão de CD62P por MIF em pacientes sem gravidade entre D0 e D3-D7.

6. DISCUSSÃO

A trombocitopenia associada ao HIV é uma condição frequentemente observada e muitas vezes relacionada com a progressão para a Aids (FIRNHABER et al., 2010b; MARCHIONATTI; PARISI, 2021; MIGUEZ-BURBANO; JACKSON; HADRIGAN, 2005b). Por complicar o manejo de pacientes com Aids, a trombocitopenia tornou-se um desafio médico e o assunto necessita urgentemente de reexame (MIGUEZ-BURBANO; JACKSON; HADRIGAN, 2005b). Neste estudo, nós avaliamos as características clínicas e laboratoriais com desfechos da internação de PVHIV. Apresentar trombocitopenia não levou a um tempo de internação maior e a maior parte dos pacientes hospitalizados sem gravidade eram não-trombocitopênicos. Ter mostrado pelo menos um dos critérios de gravidade quase significou em aumento no tempo médio de internação. Embora estatisticamente essa relação não tenha sido significativa, o fato é que, no momento da admissão, a proporção de trombocitopênicos acontece de forma semelhante tanto em pacientes com gravidade quanto naqueles sem gravidade.

Em relação ao uso de TARV, Pascom e colaboradores mostraram que vários fatores sociodemográficos relacionados ao não uso da TARV por parte das PVHIV, seja por abandono ou por não ter tido acesso ao tratamento por serem virgens de tratamento (PASCOSM et al. 2018). Aqui os pacientes internados se encaixaram entre aqueles em uso regular de TARV, devido a carga indetectável, e os outros perfis, abandono ou virgens de tratamento. Curiosamente, a maioria dos pacientes em abandono ou virgens de tratamento apresentaram valores normais de plaquetas, enquanto quase a metade dos pacientes com carga suprimida apresentava trombocitopenia. Se a TARV faz algum efeito na contagem de plaquetas, é uma questão a ser respondida.

As alterações morfológicas das plaquetas como o inchaço plaquetário e a formação de pseudópodes é evidenciado após ativação plaquetária (JAGROOP *et al.*, 2000; VAGDATLI *et al.*, 2010). Os índices plaquetários MPV e PDW podem ser utilizados para indicar a atividade plaquetária, tal como o estado de ativação plaquetária (NKAMBULE; DAVISON; IPP, 2015a). Em relação ao uso de TARV, o MPV e o PDW não diferiram entre os três perfis de pacientes. Esses dados sugerem que, baseado principalmente no PDW, o estado inflamatório era semelhante no momento da admissão independente do uso ou não de TARV. Por outro lado, verificamos que os aumentos nos

índices de MPV e PDW foram correlacionados com a redução de plaquetas somente nos pacientes trombocitopênicos. As plaquetas ativadas têm o potencial de contribuir para a patogênese do HIV (NKAMBULE; DAVISON; IPP, 2015a). Aqui, os aumentos de MPV e PDW correlacionados com a redução de plaquetas levantam questão de alguma resposta acontece quando a contagem de plaquetas fica abaixo de $150 \times 10^3/\text{mm}^3$.

Como nós pudemos ver em nosso estudo, os índices plaquetários oferecem um método rápido e acessível para monitorar causas da trombocitopenia. Nkambule e colaboradores (2014) avaliaram os índices MPV e PDW em pacientes naive de tratamento e sem Aids e observaram que o MPV foi significativamente menor no grupo HIV em relação ao grupo controle. O MPV é usado para ajudar a diferenciar defeito de produção ou consumo/destruição na periferia. O MPV baixo indicaria a subprodução da medula, enquanto o MPV mais alto geralmente significa a alta destruição em doenças, como imune purpura trombocitopenia, pré-eclâmpsias e sepse (QADRI et al., 2013). Este achado de Nkambule e colaboradores (2018) corrobora com os nossos dados, onde a maioria dos pacientes apresentavam valores de MPV abaixo da faixa de normalidade, sugerindo um problema de base na produção de plaquetas de origem medular. Com o desenvolvimento da trombocitopenia, a medula daqueles trombocitopênicos responderiam gerando plaquetas maiores. Esses achados reforçam a necessidade de mais aprofundamento para relação entre defeito de produção e consumo/destruição de plaquetas no contexto da HIV/Aids e se o MPV oferece valor agregado na identificação de risco em PVHIV, conforme outros mencionado por outros autores (MENA et al., 2011).

Nkambule e colaboradores (2014) também avaliaram os índices de PDW em pacientes naive de tratamento e sem Aids e relataram uma diminuição significativa deste índice no grupo HIV em relação ao grupo controle. Nossos dados contrariam os observados por Nkambule e colaboradores (2014), uma vez que a maioria dos nossos pacientes apresentou índices de PDW acima da faixa de normalidade. No entanto, os pacientes HIV eram quase todos assintomáticos e naive de tratamento e ainda não apresentavam trombocitopenia, enquanto a maioria dos nossos pacientes faziam uso irregular de TARV e muitos apresentavam HIV/Aids. Pode-se sugerir através destes achados que em pacientes naive de tratamento e sem Aids, há níveis baixos de ativação plaquetária em virtude de um PDW diminuído, em contraste com pacientes que evoluíram

para um estágio avançado da infecção pelo HIV e/ou fazem uso da TARV, onde há níveis aumentados de ativação plaquetária devido a um PDW aumentado.

Em um estudo anterior, o aumento de PDW foi uma característica observada em pacientes HIV/Aids que evoluíram a óbito (GAMA *et al.*, 2021). Por meio de microscopia eletrônica, autores demonstraram que a formação de pseudópodes sob estímulo agonistas aumentam o tamanho das plaquetas de modo que o PDW tem sido usado como marcadores prospectivos de ativação plaquetária (JAGROOP *et al.*, 2000). Em outro estudo, analisadores hematológicos foram usados para avaliar PDW em amostras de grupos de pacientes cuja manifestação de ativação plaquetária é bem estabelecida, a saber: puérperas, pacientes com flebotrombose antes da terapia com anticoagulantes e pacientes com infarto do miocárdio (VAGDATLI *et al.*, 2010). Aqui, os valores de PDW indicaram que a quase totalidade dos pacientes apresentavam um limiar de ativação plaquetária acima da normalidade, indicando que o devido a cronicidade da infecção pelo HIV. Com o desenvolvimento da trombocitopenia, o PDW aumentou ainda mais da mesma maneira observada com os pacientes graves. Lembrando que a contagem média de plaquetas dos pacientes graves era menor do que os não-graves, embora nem todos eram exclusivamente trombocitopênicos. Coletivamente, nossos achados demonstram que os índices plaquetários podem oferecer um método rápido e acessível para monitorar a ativação plaquetária (VAGDATLI *et al.*, 2010).

A citometria de fluxo oferece a discriminação de subpopulações de plaquetas e avaliação do seu estado de ativação (SCHMITZ *et al.*, 1998; TOMER, 2004). Nós comparamos a quantidade e o nível de expressão de CD62 pela citometria. Ambos os parâmetros não tiveram alteração com as amostras coletadas no dia de admissão, indicando que o estado de ativação plaquetária independia da contagem de plaquetas. Quando os mesmos parâmetros foram avaliados alguns dias depois da internação, a frequência de plaquetas ativadas reduziu somente nos pacientes não trombocitopênicos. Foi verificado também que a frequência de plaquetas ativadas reduziu nos pacientes não graves. redução da ativação plaquetária é ou não uma melhor evolução da hospitalização dos pacientes não-trombocitopênicos. Mais estudos são necessários para entender o potencial valor prognóstico desses índices na convalescência dos pacientes. Se essa redução da frequência de plaquetas ativadas observada nos pacientes não graves indica uma melhora clínica durante a internação em virtude da redução das plaquetas ativadas.

Embora a citometria seja trabalhosa, cara e dificilmente incluída na rotina laboratorial, os resultados encontrados mostraram o potencial dessa técnica no monitoramento da evolução do paciente HIV/Aids durante a hospitalização, em especialmente aquele com risco de doença cardiovascular (SCHMITZ et al., 1998).

7. LIMITAÇÕES

O estudo teve algumas limitações. O número amostral da população estudada foi pequeno. Embora os pacientes aceitassem participar do estudo, nós não conseguíamos fazer a coleta da amostra isto em virtude das condições clínicas de alguns pacientes. Alguns desistiam da participação no estudo e outros recebiam alta antes de retornarmos para fazermos as coletas do 3º e 7º dia de internação.

Em relação às características gerais da população, não observamos significância entre os pacientes, o que poderia ser explicado pelo baixo número amostral e pelo fato de que não estava disponível no *iDoctor* todos os dados dos pacientes referentes às suas características gerais.

8. CONCLUSÕES

O estudo observou que os pacientes HIV/Aids apresentavam índices de MPV mais baixos. Com a trombocitopenia esses valores aumentaram por uma síntese aumentada de plaquetas grandes e recém-sintetizadas, com a finalidade de compensar a perda de plaquetas destruídas na periferia.

Os valores aumentados de PDW, sugerem uma composição de plaquetas ativadas.

Os achados aqui presentes podem ser úteis para dar a continuidade de pesquisas referentes à atividade plaquetária em PVHIV, uma vez que esta é atualmente uma importante questão de saúde pública.

Através dos nossos resultados, visamos alertar PVHIV e profissionais da área sobre a importância de estudos do papel das plaquetas no contexto da infecção pelo HIV.

9. REFERÊNCIAS

- 2020 Global AIDS Update — Seizing the moment — Tackling entrenched inequalities to end epidemics. p. 384, 2020.
- ALSHEHRI, A. M. Metabolic syndrome and cardiovascular risk. **Journal of Family & Community Medicine**, v. 17, n. 2, p. 73–78, maio 2010.
- ANDREWS, N. C. et al. Erythroid transcription factor NF-E2 is a haematopoietic-specific basic-leucine zipper protein. **Nature**, v. 362, n. 6422, p. 722–728, 22 abr. 1993.
- ANGIOLILLO, D. J.; UENO, M.; GOTO, S. Basic principles of platelet biology and clinical implications. **Circulation Journal: Official Journal of the Japanese Circulation Society**, v. 74, n. 4, p. 597–607, abr. 2010.
- ASSINGER, A. Platelets and infection – an emerging role of platelets in viral infection. **Frontiers in Immunology**, p. 12, [s.d.].
- AYYANATHAN, K. et al. Cloning and Chromosomal Localization of the Human P2Y1 Purinoceptor. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 218, n. 3, p. 783–788, jan. 1996.
- BADIMÓN, L.; VILAHUR, G.; PADRÓ, T. Lipoproteins, platelets and atherothrombosis. **Revista Espanola De Cardiologia**, v. 62, n. 10, p. 1161–1178, out. 2009.
- BAILEY, J. R. et al. Maintenance of viral suppression in HIV-1–infected HLA-B*57+ elite suppressors despite CTL escape mutations. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 203, n. 5, p. 1357–1369, 15 maio 2006.
- BEDIMO, R.; ABODUNDE, O. Metabolic and Cardiovascular Complications in HIV/HCV-Co-infected Patients. **Current HIV/AIDS reports**, v. 13, n. 6, p. 328–339, dez. 2016.
- BEHNKE, O. The morphology of blood platelet membrane systems. **Series Haematologica (1968)**, v. 3, n. 4, p. 3–16, 1970.
- BENZAKEN, A. S. et al. Antiretroviral treatment, government policy and economy of HIV/AIDS in Brazil: is it time for HIV cure in the country? **AIDS research and therapy**, v. 16, n. 1, p. 19, 14 ago. 2019.
- BERGER, G.; MASSÉ, J. M.; CRAMER, E. M. Alpha-granule membrane mirrors the platelet plasma membrane and contains the glycoproteins Ib, IX, and V. **Blood**, v. 87, n. 4, p. 1385–1395, 15 fev. 1996.
- BERTOZZI, C. C. et al. Platelets regulate lymphatic vascular development through CLEC-2–SLP-76 signaling. **Blood**, v. 116, n. 4, p. 661–670, 29 jul. 2010.
- BETTS, M. R. et al. HIV nonprogressors preferentially maintain highly functional HIV-specific CD8+ T cells. **Blood**, v. 107, n. 12, p. 4781–4789, 15 jun. 2006.

- BLAIR, P.; FLAUMENHAFT, R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. **Blood Reviews**, v. 23, n. 4, p. 177–189, jul. 2009.
- BORGES, A. H.; DUBROW, R.; SILVERBERG, M. J. Factors contributing to risk for cancer among HIV-infected individuals, and evidence that earlier combination antiretroviral therapy will alter this risk. **Current opinion in HIV and AIDS**, v. 9, n. 1, p. 34–40, jan. 2014.
- BORN, G. V. R. Aggregation of Blood Platelets by Adenosine Diphosphate and its Reversal. **Nature**, v. 194, n. 4832, p. 927–929, jun. 1962.
- BOSHO, D. D. et al. Prevalence and predictors of metabolic syndrome among people living with human immunodeficiency virus (PLWHIV). **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 10, p. 10, 2018.
- BOUKOUR, S. et al. Lentivirus degradation and DC-SIGN expression by human platelets and megakaryocytes. **Journal of thrombosis and haemostasis: JTH**, v. 4, n. 2, p. 426–435, fev. 2006.
- BOURGI, K.; WANJALLA, C.; KOETHE, J. R. Inflammation and Metabolic Complications in HIV. **Current HIV/AIDS reports**, v. 15, n. 5, p. 371–381, out. 2018.
- BOUVARD, D. et al. Functional consequences of integrin gene mutations in mice. **Circulation Research**, v. 89, n. 3, p. 211–223, 3 ago. 2001.
- BOZZA, F. A. et al. Amicus or adversary: platelets in lung biology, acute injury, and inflammation. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 40, n. 2, p. 123–134, fev. 2009.
- BRASS, L. F. et al. Boundary events: contact-dependent and contact-facilitated signaling between platelets. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 30, n. 4, p. 399–410, ago. 2004.
- BRASS, L. F.; HOXIE, J. A.; MANNING, D. R. Signaling through G proteins and G protein-coupled receptors during platelet activation. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 70, n. 1, p. 217–223, 1 jul. 1993.
- BRENCHLEY, J. M. et al. CD4+ T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 200, n. 6, p. 749–759, 20 set. 2004.
- BREWER, D. B. Max Schultze (1865), G. Bizzozero (1882) and the discovery of the platelet. **British Journal of Haematology**, v. 133, n. 3, p. 251–258, maio 2006.
- BRITES-ALVES, C. et al. Immune Activation, Proinflammatory Cytokines, and Conventional Risks for Cardiovascular Disease in HIV Patients: A Case-Control Study in Bahia, Brazil. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1469, 2018.
- BROOKS, J. T. et al. HIV-Associated Opportunistic Infections—Going, Going, But Not Gone: The Continued Need for Prevention and Treatment Guidelines. **Clinical Infectious Diseases**, v. 48, n. 5, p. 609–611, 1 mar. 2009.

BURKHART, J. M. et al. The first comprehensive and quantitative analysis of human platelet protein composition allows the comparative analysis of structural and functional pathways. **Blood**, v. 120, n. 15, p. e73–e82, 11 out. 2012.

CAO, Y. et al. Virologic and immunologic characterization of long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 332, n. 4, p. 201–208, 26 jan. 1995.

CARON, M. G. et al. Cloning of the cDNA and genes for the hamster and human beta 2-adrenergic receptors. **Journal of Receptor Research**, v. 8, n. 1–4, p. 7–21, 1988.

CHABERT, A. et al. Human platelets and their capacity of binding viruses: meaning and challenges? **BMC Immunology**, v. 16, n. 1, p. 26, 28 abr. 2015.

CHEN, P. et al. Virological Synapses Allow HIV-1 Uptake and Gene Expression in Renal Tubular Epithelial Cells. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 22, n. 3, p. 496–507, mar. 2011.

CLEMETSON, K. J. et al. Characterization of the platelet membrane glycoprotein abnormalities in Bernard-Soulier syndrome and comparison with normal by surface-labeling techniques and high-resolution two-dimensional gel electrophoresis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 70, n. 2, p. 304–311, ago. 1982.

COGNASSE, F. et al. Evidence of Toll-like receptor molecules on human platelets. **Immunology and Cell Biology**, v. 83, n. 2, p. 196–198, abr. 2005.

COMMISSIONER, O. OF THE. **U.S. Food and Drug Administration**. Disponível em: <<https://www.fda.gov/home>>. Acesso em: 28 maio. 2021.

DE COCK, K. M.; JAFFE, H. W.; CURRAN, J. W. Reflections on 30 Years of AIDS. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 6, p. 1044–1048, jun. 2011.

DE GAETANO, G.; CERLETTI, C. Platelet adhesion and aggregation and fibrin formation in flowing blood: a historical contribution by Giulio Bizzozero. **Platelets**, v. 13, n. 2, p. 85–89, mar. 2002.

DEEKS, S. G.; WALKER, B. D. Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy. **Immunity**, v. 27, n. 3, p. 406–416, set. 2007.

DERDEYN, C. A. et al. Envelope-constrained neutralization-sensitive HIV-1 after heterosexual transmission. **Science (New York, N.Y.)**, v. 303, n. 5666, p. 2019–2022, 26 mar. 2004.

DERESSA, T. et al. Anemia and thrombocytopenia in the cohort of HIV-infected adults in northwest Ethiopia: a facility-based cross-sectional study. **EJIFCC**, v. 29, n. 1, p. 36–47, abr. 2018.

DESHMANE, S. L. et al. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1): An Overview. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 29, n. 6, p. 313–326, jun. 2009.

- DHURVE, S. A.; DHURVE, A. S. Bone Marrow Abnormalities in HIV Disease. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, v. 5, n. 1, 3 jun. 2013.
- DRAGOVIĆ, G. et al. Higher Levels of Cystatin C in HIV/AIDS Patients with Metabolic Syndrome. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 122, n. 4, p. 396–401, abr. 2018.
- EVERTS, P. A. M. et al. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. **The Journal of Extra-Corporeal Technology**, v. 38, n. 2, p. 174–187, jun. 2006.
- FAHME, S. A.; BLOOMFIELD, G. S.; PECK, R. Hypertension in HIV-Infected Adults: Novel Pathophysiologic Mechanisms. **Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)**, v. 72, n. 1, p. 44–55, jul. 2018.
- FANALES-BELASIO, E. et al. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. p. 10, [s.d.].
- FIRNHABER, C. et al. Comparisons of anemia, thrombocytopenia, and neutropenia at initiation of HIV antiretroviral therapy in Africa, Asia, and the Americas. **International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases**, v. 14, n. 12, p. e1088-1092, dez. 2010a.
- FIRNHABER, C. et al. Comparisons of anemia, thrombocytopenia, and neutropenia at initiation of HIV antiretroviral therapy in Africa, Asia, and the Americas. **International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases**, v. 14, n. 12, p. e1088-1092, dez. 2010b.
- FORD, E. S.; PURONEN, C. E.; SERETI, I. Immunopathogenesis of Asymptomatic Chronic HIV Infection: The Calm before the Storm. **Current opinion in HIV and AIDS**, v. 4, n. 3, p. 206–214, maio 2009.
- FREED, E. O. HIV-1 Gag Proteins: Diverse Functions in the Virus Life Cycle. **Virology**, v. 251, n. 1, p. 1–15, 10 nov. 1998.
- FRENETTE, P. S. et al. P-Selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) is expressed on platelets and can mediate platelet-endothelial interactions in vivo. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 191, n. 8, p. 1413–1422, 17 abr. 2000.
- FURMAN, M. I. et al. The cleaved peptide of the thrombin receptor is a strong platelet agonist. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 6, p. 3082–3087, 17 mar. 1998.
- GAARDBO, J. C. et al. Thirty Years with HIV Infection—Nonprogression Is Still Puzzling: Lessons to Be Learned from Controllers and Long-Term Nonprogressors. **AIDS Research and Treatment**, v. 2012, p. 161584, 2012.
- GAMI, A. S. et al. Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 49, n. 4, p. 403–414, 30 jan. 2007.

GANDHI, R. T.; WALKER, B. D. Immunologic control of HIV-1. **Annual Review of Medicine**, v. 53, p. 149–172, 2002.

GARRAUD, O.; COGNASSE, F. Are Platelets Cells? And if Yes, are They Immune Cells? **Frontiers in Immunology**, v. 6, 20 fev. 2015.

GEBERHIWOT, T. et al. Blood Platelets Contain and Secrete Laminin-8 ($\alpha 4\beta 1\gamma 1$) and Adhere to Laminin-8 via $\alpha 6\beta 1$ Integrin. **Experimental Cell Research**, v. 253, n. 2, p. 723–732, dez. 1999.

GEIJTENBEEK, T. B. et al. DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. **Cell**, v. 100, n. 5, p. 587–597, 3 mar. 2000.

GHIMIRE, D.; RAI, M.; GAUR, R. 2018. Novel host restriction factors implicated in HIV-1 replication. **Journal of General Virology**, v. 99, n. 4, p. 435–446, [s.d.].

GHOSHAL, K.; BHATTACHARYYA, M. Overview of platelet physiology: its hemostatic and nonhemostatic role in disease pathogenesis. **TheScientificWorldJournal**, v. 2014, p. 781857, 2014.

GOTTLIEB, M. S. □ VOICES FROM THE PAST □. **American Journal of Public Health**, v. 96, n. 6, p. 4, 2006.

GREMME, T.; FRELINGER, A.; MICHELSON, A. Platelet Physiology. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 42, n. 03, p. 191–204, 29 fev. 2016.

HARJUNPÄÄ, H. et al. Cell Adhesion Molecules and Their Roles and Regulation in the Immune and Tumor Microenvironment. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 2019.

HEEMSKERK, J. W. M.; BEVERS, E. M.; LINDHOUT, T. Platelet activation and blood coagulation. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 88, n. 2, p. 186–193, ago. 2002.

HOLLOPETER, G. et al. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. **Nature**, v. 409, n. 6817, p. 202–207, jan. 2001.

HOLME, P. A. et al. Enhanced activation of platelets with abnormal release of RANTES in human immunodeficiency virus type 1 infection. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 12, n. 1, p. 79–89, jan. 1998.

HUSAIN, N. E. et al. Diabetes, metabolic syndrome and dyslipidemia in people living with HIV in Africa: re-emerging challenges not to be forgotten. **HIV/AIDS (Auckland, N.Z.)**, v. 9, p. 193–202, 2017.

IDICULLA, J. et al. Metabolic syndrome and cardiovascular disease risk assessment among human immunodeficiency virus-infected individuals on antiretroviral therapy. **Indian journal of sexually transmitted diseases and AIDS**, v. 39, n. 1, p. 28–33, jun. 2018.

ITALIANO, J. E. et al. Blood platelets are assembled principally at the ends of proplatelet processes produced by differentiated megakaryocytes. **The Journal of Cell Biology**, v. 147, n. 6, p. 1299–1312, 13 dez. 1999.

IVY, W. et al. Cancer Among Children With Perinatal Exposure to HIV and Antiretroviral Medications--New Jersey, 1995-2010. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)**, v. 70, n. 1, p. 62–66, 1 set. 2015.

JAGROOP, I. A. et al. Shape change in human platelets: measurement with a channelyzer and visualisation by electron microscopy. **Platelets**, v. 11, n. 1, p. 28–32, fev. 2000.

JANDROT-PERRUS, M.; NURDEN, P. [From platelet functions to therapy]. **La Revue De Medecine Interne**, v. 31 Suppl 3, p. S319-323, dez. 2010.

KAMATH, S.; BLANN, A. D.; LIP, G. Y. Platelet activation: assessment and quantification. **European Heart Journal**, v. 22, n. 17, p. 1561–1571, set. 2001.

KARSHOVSKA, E.; WEBER, C.; VON HUNDELSHAUSEN, P. Platelet chemokines in health and disease. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 110, n. 5, p. 894–902, nov. 2013.

KAUSKOT, A. et al. A novel mechanism of sustained platelet α IIB β 3 activation via PEAR1. **Blood**, v. 119, n. 17, p. 4056–4065, 26 abr. 2012.

KEELE, B. F. et al. Identification and characterization of transmitted and early founder virus envelopes in primary HIV-1 infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 21, p. 7552–7557, 27 maio 2008.

KING, S. M.; REED, G. L. Development of platelet secretory granules. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 13, n. 4, p. 293–302, ago. 2002.

KREBS, S. J.; ANANWORANICH, J. Immune activation during acute HIV infection and the impact of early antiretroviral therapy: **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 11, n. 2, p. 163–172, mar. 2016.

KRISHNEGOWDA, M.; RAJASHEKARAIHAH, V. Platelet disorders: an overview. **Blood Coagulation & Fibrinolysis**, v. 26, n. 5, p. 479–491, jul. 2015.

LAKE, J. E. The Fat of the Matter: Obesity and Visceral Adiposity in Treated HIV Infection. **Current HIV/AIDS reports**, v. 14, n. 6, p. 211–219, dez. 2017.

LANDI, E. P.; MARQUES JÚNIOR, J. F. C. Caracterização da ativação plaquetária nos concentrados de plaquetas por citometria de fluxo. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 25, n. 1, mar. 2003.

LASSEN, K. G. et al. Elite Suppressor–Derived HIV-1 Envelope Glycoproteins Exhibit Reduced Entry Efficiency and Kinetics. **PLoS Pathogens**, v. 5, n. 4, 10 abr. 2009.

LITTLE, S. J. et al. Viral Dynamics of Acute HIV-1 Infection. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 190, n. 6, p. 841–850, 20 set. 1999.

- LIU, Y. et al. CD4-Independent Infection of Astrocytes by Human Immunodeficiency Virus Type 1: Requirement for the Human Mannose Receptor. **Journal of Virology**, v. 78, n. 8, p. 4120–4133, abr. 2004.
- LU, D.-Y. et al. HAART in HIV/AIDS Treatments: Future Trends. **Infectious Disorders - Drug Targets**, v. 18, n. 1, p. 15–22, 20 mar. 2018.
- LUSIC, M.; SILICIANO, R. F. Nuclear landscape of HIV-1 infection and integration. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 2, p. 69–82, fev. 2017.
- MAARTENS, G.; CELUM, C.; LEWIN, S. R. HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. **The Lancet**, v. 384, n. 9939, p. 258–271, jul. 2014.
- MAIA, É. C. A.; REIS JUNIOR, L. P. Modos de enfrentamento do HIV/AIDS: direitos humanos, vulnerabilidades e assistência à saúde. **Revista do NUFEN**, v. 11, n. 1, p. 178–193, abr. 2019.
- MANJATI, T.; NKAMBULE, B.; IPP, H. Immune activation is associated with decreased thymic function in asymptomatic, untreated HIV-infected individuals. **Southern African journal of HIV medicine**, v. 17, n. 1, p. 445, 2016.
- MARCHIONATTI, A.; PARISI, M. M. Anemia and thrombocytopenia in people living with HIV/AIDS: a narrative literature review. **International Health**, v. 13, n. 2, p. 98–109, 24 fev. 2021.
- MASON, K. D. et al. Programmed anuclear cell death delimits platelet life span. **Cell**, v. 128, n. 6, p. 1173–1186, 23 mar. 2007.
- MCMICHAEL, A. J. et al. The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development. **Nature Reviews. Immunology**, v. 10, n. 1, p. 11–23, 2010.
- MCNICOL, A.; GERRARD, J. M. Platelet Morphology, Aggregation, and Secretion. Em: BITTAR, E. E.; LAPETINA, E. G. (Eds.). **Advances in Molecular and Cell Biology**. The Platelet. [s.l.] Elsevier, 1997. v. 18p. 1–29.
- MENA, Á. et al. HIV increases mean platelet volume during asymptomatic HIV infection in treatment-naive patients. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)**, v. 57, n. 5, p. e112-113, 15 ago. 2011.
- METCALF PATE, K. A.; MANKOWSKI, J. L. HIV and SIV Associated Thrombocytopenia: An Expanding Role for Platelets in the Pathogenesis of HIV. **Drug Discovery Today. Disease Mechanisms**, v. 8, n. 1–2, p. e25–e32, 2011.
- MICHELSON, A. D. Thrombin-induced down-regulation of the platelet membrane glycoprotein Ib-IX complex. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, v. 18, n. 1, p. 18–27, jan. 1992.
- MIGUELES, S. A. et al. HIV-specific CD8+ T cell proliferation is coupled to perforin expression and is maintained in nonprogressors. **Nature Immunology**, v. 3, n. 11, p. 1061–1068, nov. 2002.

MIGUEZ-BURBANO, M. J.; JACKSON, J.; HADRIGAN, S. Thrombocytopenia in HIV disease: clinical relevance, physiopathology and management. **Current Medicinal Chemistry. Cardiovascular and Hematological Agents**, v. 3, n. 4, p. 365–376, out. 2005a.

MIGUEZ-BURBANO, M. J.; JACKSON, J.; HADRIGAN, S. Thrombocytopenia in HIV disease: clinical relevance, physiopathology and management. **Current Medicinal Chemistry. Cardiovascular and Hematological Agents**, v. 3, n. 4, p. 365–376, out. 2005b.

MOIR, S.; CHUN, T.-W.; FAUCI, A. S. Pathogenic Mechanisms of HIV Disease. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 6, n. 1, p. 223–248, 2011a.

MOIR, S.; CHUN, T.-W.; FAUCI, A. S. Pathogenic Mechanisms of HIV Disease. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 6, n. 1, p. 223–248, 28 fev. 2011b.

MUÑOZ, A. et al. Predictors of decline in CD4 lymphocytes in a cohort of homosexual men infected with human immunodeficiency virus. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 1, n. 4, p. 396–404, 1988.

MUÑOZ, A. et al. Long-term survivors with HIV-1 infection: incubation period and longitudinal patterns of CD4+ lymphocytes. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology: Official Publication of the International Retrovirology Association**, v. 8, n. 5, p. 496–505, 15 abr. 1995.

NAGATA, S. et al. Evolutionary Analysis of HIV-1 Pol Proteins Reveals Representative Residues for Viral Subtype Differentiation. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017.

NASI, M. et al. Persistent inflammation in HIV infection: established concepts, new perspectives. **Immunology Letters**, v. 161, n. 2, p. 184–188, out. 2014.

NGUYEN, K. A. et al. A Meta-Analysis of the Metabolic Syndrome Prevalence in the Global HIV-Infected Population. **PloS One**, v. 11, n. 3, p. e0150970, 2016.

NISSEN, S. K. et al. Multiple Homozygous Variants in the STING-Encoding *TMEM173* Gene in HIV Long-Term Nonprogressors. **The Journal of Immunology**, v. 200, n. 10, p. 3372–3382, 15 maio 2018.

NKAMBULE, B. B.; DAVISON, G. M.; IPP, H. The evaluation of platelet indices and markers of inflammation, coagulation and disease progression in treatment-naïve, asymptomatic HIV-infected individuals. **International Journal of Laboratory Hematology**, v. 37, n. 4, p. 450–458, 2015a.

NKAMBULE, B. B.; DAVISON, G. M.; IPP, H. The evaluation of platelet indices and markers of inflammation, coagulation and disease progression in treatment-naïve, asymptomatic HIV-infected individuals. **International Journal of Laboratory Hematology**, v. 37, n. 4, p. 450–458, ago. 2015b.

NORDING, H.; BARON, L.; LANGER, H. F. Platelets as therapeutic targets to prevent atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 307, p. 97–108, ago. 2020.

OLIVEIRA, R. DO S. M. DE et al. HIV/AIDS epidemic in the State of Amazonas: characteristics and trends from 2001 to 2012. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, p. 70–78, maio 2015.

OLIVEIRA, I. et al. Plaquetas: Papéis tradicionais e não tradicionais na hemostasia, na inflamação e no câncer. **ABCS Health Sciences**, v. 38, n. 3, 20 dez. 2013.

PANTALEO, G. et al. Studies in subjects with long-term nonprogressive human immunodeficiency virus infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 332, n. 4, p. 209–216, 26 jan. 1995.

PATEL, P.; RAIZES, E.; BROYLES, L. N. Human Immunodeficiency Virus Infection. Em: **Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 232–266.

PATEL, S. R.; HARTWIG, J. H.; ITALIANO, J. E. The biogenesis of platelets from megakaryocyte proplatelets. **Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 12, p. 3348–3354, 1 dez. 2005.

PATTERSON, S. et al. Life expectancy of HIV-positive individuals on combination antiretroviral therapy in Canada. **BMC infectious diseases**, v. 15, p. 274, 17 jul. 2015.

PEDRO, M. N. et al. Insulin Resistance in HIV-Patients: Causes and Consequences. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, p. 514, 2018.

PERAZZO, H. et al. Predictive factors associated with liver fibrosis and steatosis by transient elastography in patients with HIV mono-infection under long-term combined antiretroviral therapy. **Journal of the International AIDS Society**, v. 21, n. 11, p. e25201, nov. 2018.

PIATAK, M. et al. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. **Science (New York, N.Y.)**, v. 259, n. 5102, p. 1749–1754, 19 mar. 1993.

PIOTROWICZ, R. S. et al. Glycoprotein Ic-IIa functions as an activation-independent fibronectin receptor on human platelets. **The Journal of Cell Biology**, v. 106, n. 4, p. 1359–1364, abr. 1988.

POMERANTZ, R. J.; HORN, D. L. Twenty years of therapy for HIV-1 infection. **Nature Medicine**, v. 9, n. 7, p. 867–873, jul. 2003.

PUGLIESE, A. et al. Influence of fibronectin on HIV-1 infection and capability of binding to platelets. **Cell Biochemistry and Function**, v. 14, n. 4, p. 291–296, dez. 1996.

PYTELA, R.; PIERSCHBACHER, M. D.; RUOSLAHTI, E. A 125/115-kDa cell surface receptor specific for vitronectin interacts with the arginine-glycine-aspartic acid

adhesion sequence derived from fibronectin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 82, n. 17, p. 5766–5770, set. 1985.

QADRI, S. et al. MEAN PLATELET VOLUME IS DECREASED IN HIV INFECTED WOMEN. **HIV medicine**, v. 14, n. 9, p. 549–555, out. 2013.

QUINN, T. C. Acute Primary HIV Infection. **JAMA**, v. 278, n. 1, p. 58–62, 2 jul. 1997.

RAPOSO, M. A. et al. Metabolic disorders and cardiovascular risk in people living with HIV/AIDS without the use of antiretroviral therapy. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, v. 50, n. 5, p. 598–606, out. 2017.

RICHMAN, D. D. et al. Rapid evolution of the neutralizing antibody response to HIV type 1 infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 7, p. 4144–4149, 1 abr. 2003.

ROGALSKA-PŁOŃSKA, M. et al. Metabolic syndrome in HIV infected adults in Poland. **Kardiologia Polska**, v. 76, n. 3, p. 548–553, 2018.

ROKKAM, V. R.; KOTAGIRI, R. Secondary Thrombocytosis. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021.

S, A. et al. Thrombocytopenia is strongly associated with simian AIDS in pigtail macaques. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)**, v. 51, n. 4, p. 374–379, 1 ago. 2009.

SAKO, D. et al. Expression cloning of a functional glycoprotein ligand for P-selectin. **Cell**, v. 75, n. 6, p. 1179–1186, 17 dez. 1993.

SAKSENA, N. K. et al. Elite HIV controllers: myth or reality? **AIDS reviews**, v. 9, n. 4, p. 195–207, dez. 2007.

SALAZAR-GONZALEZ, J. F. et al. Genetic identity, biological phenotype, and evolutionary pathways of transmitted/founder viruses in acute and early HIV-1 infection. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 206, n. 6, p. 1273–1289, 8 jun. 2009.

SCHMITZ, G. et al. European Working Group on Clinical Cell Analysis: Consensus protocol for the flow cytometric characterisation of platelet function. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 79, n. 5, p. 885–896, maio 1998.

SCHOUTEN, J. et al. Cross-sectional comparison of the prevalence of age-associated comorbidities and their risk factors between HIV-infected and uninfected individuals: the AGEHIV cohort study. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 59, n. 12, p. 1787–1797, 15 dez. 2014.

SCOTT-ALGARA, D. et al. Serum levels of IL-2, IL-1 alpha, TNF-alpha, and soluble receptor of IL-2 in HIV-1-infected patients. **AIDS research and human retroviruses**, v. 7, n. 4, p. 381–386, abr. 1991.

SCUTARI, R. et al. The Role of HIV Infection in Neurologic Injury. **Brain Sciences**, v. 7, n. 4, p. E38, 6 abr. 2017.

SEIZER, P. et al. EMMPRIN and its ligand cyclophilin A regulate MT1-MMP, MMP-9 and M-CSF during foam cell formation. **Atherosclerosis**, v. 209, n. 1, p. 51–57, mar. 2010.

SEMPLE, J. W.; ITALIANO, J. E.; FREEDMAN, J. Platelets and the immune continuum. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 4, p. 264–274, abr. 2011.

SHIRAKI, R. et al. Expression of Toll-like receptors on human platelets. **Thrombosis Research**, v. 113, n. 6, p. 379–385, jan. 2004.

SINGH, E. et al. HIV-associated malignancies in children. **Current opinion in HIV and AIDS**, v. 12, n. 1, p. 77–83, jan. 2017.

SOKOYA, T. et al. HIV as a Cause of Immune Activation and Immunosenescence. **Mediators of Inflammation**, v. 2017, p. 6825493, 2017.

SOLOMON TSEGAYE, T. et al. Platelet activation suppresses HIV-1 infection of T cells. **Retrovirology**, v. 10, n. 1, p. 48, 1 maio 2013.

SONNENBERG, A.; MODDERMAN, P. W.; HOGERVORST, F. Laminin receptor on platelets is the integrin VLA-6. **Nature**, v. 336, n. 6198, p. 487–489, dez. 1988.

STAATZ, W. D. et al. The membrane glycoprotein Ia-IIa (VLA-2) complex mediates the Mg⁺⁺-dependent adhesion of platelets to collagen. **The Journal of Cell Biology**, v. 108, n. 5, p. 1917–1924, maio 1989.

STAPRANS, S. I.; FEINBERG, M. B. The roles of nonhuman primates in the preclinical evaluation of candidate AIDS vaccines. **Expert Review of Vaccines**, v. 3, n. 4 Suppl, p. S5-32, ago. 2004.

STEINGROVER, R. et al. HIV-1 viral rebound dynamics after a single treatment interruption depends on time of initiation of highly active antiretroviral therapy. **AIDS (London, England)**, v. 22, n. 13, p. 1583–1588, 20 ago. 2008.

SÜKÖSD, Z. et al. Full-length RNA structure prediction of the HIV-1 genome reveals a conserved core domain. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. 21, p. 10168–10179, 2 dez. 2015.

SUN, B. et al. P2X1 purinoceptor in human platelets. Molecular cloning and functional characterization after heterologous expression. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 19, p. 11544–11547, 8 maio 1998.

SUZUKI-INOUE, K. et al. Essential in vivo roles of the C-type lectin receptor CLEC-2: embryonic/neonatal lethality of CLEC-2-deficient mice by blood/lymphatic misconnections and impaired thrombus formation of CLEC-2-deficient platelets. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 32, p. 24494–24507, 6 ago. 2010.

- SWAMI, A. Metabolic Syndrome and HIV Infection. **Journal of HIV & Retro Virus**, v. 2, n. 1, 22 abr. 2016.
- TAREMWA, I. M. et al. Prevalence of HIV-related thrombocytopenia among clients at Mbarara Regional Referral Hospital, Mbarara, southwestern Uganda. **Journal of Blood Medicine**, v. 6, p. 109–113, 2015.
- TEERAANANCHAI, S. et al. Life expectancy of HIV-positive people after starting combination antiretroviral therapy: a meta-analysis. **HIV medicine**, v. 18, n. 4, p. 256–266, abr. 2017.
- TEIXEIRA, C. et al. Viral surface glycoproteins, gp120 and gp41, as potential drug targets against HIV-1: Brief overview one quarter of a century past the approval of zidovudine, the first anti-retroviral drug. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 4, p. 979–992, 1 abr. 2011.
- THEENGH, D. P. et al. Assessment of metabolic syndrome in HIV-infected individuals. **Indian journal of sexually transmitted diseases and AIDS**, v. 38, n. 2, p. 152–156, dez. 2017.
- THON, J. N.; ITALIANO, J. E. Platelets: Production, Morphology and Ultrastructure. Em: GRESELE, P. et al. (Eds.). **Antiplatelet Agents**. Handbook of Experimental Pharmacology. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012. v. 210p. 3–22.
- TING-REN LU, D.-Y. L. Challenges for HIV/AIDS Therapy. **Advances in Pharmacoepidemiology & Drug Safety**, v. 02, n. 04, 2013.
- TOMER, A. Platelet activation as a marker for in vivo prothrombotic activity: detection by flow cytometry. **Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents**, v. 18, n. 2, p. 172–177, jun. 2004.
- TORRE, D.; PUGLIESE, A. Platelets and HIV-1 Infection: Old and New Aspects. **Current HIV Research**, v. 6, n. 5, p. 411–418, 1 set. 2008.
- TSUKAMOTO, T. Hematopoietic Stem/Progenitor Cells and the Pathogenesis of HIV/AIDS. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 60, 2020.
- VAGDATLI, E. et al. Platelet distribution width: a simple, practical and specific marker of activation of coagulation. **Hippokratia**, v. 14, n. 1, p. 28–32, jan. 2010.
- VISHNU, P.; ABOULAFIA, D. M. Haematological manifestations of human immune deficiency virus infection. **British Journal of Haematology**, v. 171, n. 5, p. 695–709, dez. 2015.
- VON HUNDELSHAUSEN, P.; WEBER, C. Platelets as immune cells: bridging inflammation and cardiovascular disease. **Circulation Research**, v. 100, n. 1, p. 27–40, 5 jan. 2007.
- VU, T. K. et al. Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation. **Cell**, v. 64, n. 6, p. 1057–1068, 22 mar. 1991.

WEI, X. et al. Antibody neutralization and escape by HIV-1. **Nature**, v. 422, n. 6929, p. 307–312, 20 mar. 2003.

WEYRICH, A. S.; ZIMMERMAN, G. A. Platelets: signaling cells in the immune continuum. **Trends in Immunology**, v. 25, n. 9, p. 489–495, set. 2004.

WHITE, J. G. Tubular elements in platelet granules. **Blood**, v. 32, n. 1, p. 148–156, jul. 1968.

WHITE, J. G. Interaction of Membrane Systems in Blood Platelets. **The American Journal of Pathology**, v. 66, n. 2, p. 295–312, fev. 1972.

WHITE, J. G. Electron dense chains and clusters in human platelets. **Platelets**, v. 13, n. 5–6, p. 317–325, set. 2002.

WHITE, J. G. Medich giant platelet disorder: a unique alpha granule deficiency I. Structural abnormalities. **Platelets**, v. 15, n. 6, p. 345–353, set. 2004.

WILLICH, S. N. et al. Platelet alpha2 adrenoceptor characteristics during the morning increase in platelet aggregability. **European Heart Journal**, v. 13, n. 4, p. 550–555, 1 abr. 1992.

WOLDEMESKEL, B. A.; KWAA, A. K.; BLANKSON, J. N. Viral reservoirs in elite controllers of HIV-1 infection: Implications for HIV cure strategies. **eBioMedicine**, v. 62, 1 dez. 2020.

WONDIMENEH, Y.; MULUYE, D.; FERED, G. Prevalence and associated factors of thrombocytopenia among HAART-naive HIV-positive patients at Gondar University Hospital, northwest Ethiopia. **BMC research notes**, v. 7, p. 5, 6 jan. 2014.

XU, W. -F. et al. Cloning and characterization of human protease-activated receptor 4. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, n. 12, p. 6642–6646, 9 jun. 1998.

XU, Y.; CHEN, X.; WANG, K. Global prevalence of hypertension among people living with HIV: a systematic review and meta-analysis. **Journal of the American Society of Hypertension: JASH**, v. 11, n. 8, p. 530–540, ago. 2017.

YOSHIMURA, K. Current status of HIV/AIDS in the ART era. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 23, n. 1, p. 12–16, jan. 2017.

YOUSSEFIAN, T. et al. Host defense role of platelets: engulfment of HIV and Staphylococcus aureus occurs in a specific subcellular compartment and is enhanced by platelet activation. **Blood**, v. 99, n. 11, p. 4021–4029, 1 jun. 2002.

ZHAO, Y.; MCGOOGAN, J. M.; WU, Z. The Benefits of Immediate ART. **Journal of the International Association of Providers of AIDS Care (JIAPAC)**, v. 18, p. 2325958219831714, 1 jan. 2019.

ZICARI, S. et al. Immune Activation, Inflammation, and Non-AIDS Co-Morbidities in HIV-Infected Patients under Long-Term ART. **Viruses**, v. 11, n. 3, p. 200, 27 fev. 2019.

10. ANEXOS

Anexo 1

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: PARÂMETROS CLÍNICOS E LABORATORIAIS COMO PREDITORES DE ÓBITO EM PACIENTES HIV/AIDS INTERNADOS

Pesquisador: Monique Freire dos Reis

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 89865118.8.0000.0005

Instituição Proponente: Diretoria de Ensino e Pesquisa - DENPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.345.985

Apresentação do Projeto:

conforme parecer #2.772.107, aprovado em 16 de julho de 2018.

Objetivo da Pesquisa:

conforme parecer #3.083.615, aprovado em 14 de dezembro de 2018 (emenda 1).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

conforme parecer #3.083.615, aprovado em 14 de dezembro de 2018 (emenda 1).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

trata-se da apresentação de nova emenda ao protocolo original, desta vez para a inclusão de novos membros à equipe original, a saber:

1. Taynnã Vernalha Rocha Almeida CPF: 04421197980 (UFAM – Pós-doutoranda)
2. Bárbara José Antunes Baptista CPF: 12499795794 (FIOCRUZ - Pós-doutoranda)
3. Wilson Zacarias Aires Neto CPF: 88877914220 (UFAM - Mestrando)
4. Wellington Mota Gama CPF: 01629683299 (UFAM - Mestrando)
5. Rosilynne Ericka Silva Costa CPF: 00389097233 (PAIC - FIOCRUZ)
6. Jaqueline de Sousa Veras Barbosa CPF: 34375716215 (UFAM - Mestrando)
7. Nadia Ketssa Lima Lucas CPF: 52078779253 (UFAM - Mestrando)
8. Rogerio Rudson Passos do Nascimento CPF: 00044447280 (UFAM - Mestrando)

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25
 Bairro: D. Pedro I CEP: 69.040-000
 UF: AM Município: MANAUS
 Telefone: (92)2127-3572 Fax: (92)2127-3572 E-mail: cep@fml.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 3.345.985

9. Denilson da Silva Veras CPF: 00292701209 (UFAM - Mestrando)
10. Maria Gracilene Gomes Diniz CPF: 33626537315 (UFAM - Mestrando)
11. Suzy Cristina França Rodrigues CPF: 00912210214 (UFAM - Mestrando)
12. Thiago de Oliveira Pires CPF: 78975573249 (UFAM - Mestrando)
13. João Viniato Mazolo CPF: 097972511 (UFAM - Mestrado)

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:
de acordo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

diante do exposto, considero a presente emenda APROVADA, salvo melhor juízo.

Considerações Finais a critério do CEP:

A presente EMENDA (E2) está APROVADA e os interessados ficam informados de dar continuidade em apresentar a este CEP os relatórios parciais e final do estudo, conforme prevê a Resolução CNS nº 486/2012, utilizando o formulário de Roteiro para Relatório Parcial/Final de estudos clínicos Unicêntricos e Multicêntricos, proposto pela CONEP em nossa home page.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1341457_E2.pdf	07/05/2019 12:22:33		Aceito
Outros	emenda.pdf	07/05/2019 12:21:08	Taynná Vernalha Rocha Almeida	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_2.docx	11/12/2018 19:33:06	Monique Freire dos Reis	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_tese_CEP.docx	11/12/2018 19:32:51	Monique Freire dos Reis	Aceito
Outros	carta.pdf	11/12/2018 19:30:23	Monique Freire dos Reis	Aceito
Outros	E_Anexo3_TDCLE_subestudo_2.pdf	11/12/2018 19:13:06	Monique Freire dos Reis	Aceito
Outros	E_Anexo_2b_Emenda_1_clean.docx	11/12/2018 19:12:51	Monique Freire dos Reis	Aceito
Outros	E_Anexo_2a_Emenda_1_com_alteracoes_marcadas.docx	11/12/2018 19:12:29	Monique Freire dos Reis	Aceito
Outros	E_Anexo_1_TCLE_subestudo1_clean.	11/12/2018	Monique Freire dos Reis	Aceito

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25
 Bairro: D. Pedro I CEP: 69.040-000
 UF: AM Município: MANAUS
 Telefone: (92)2127-3572 Fax: (92)2127-3572 E-mail: cep@fmt.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 3.345.985

Outros	docx	19:12:09	Reis	Aceito
Outros	E_anexotolesubestudo.docx	11/12/2018 19:09:45	Monique Freire dos Reis	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto.pdf	15/05/2018 23:04:41	Monique Freire dos Reis	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MANAUS, 24 de Maio de 2019

Assinado por:
Marilaine Martins
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25
 Bairro: D. Pedro I CEP: 69.040-000
 UF: AM Município: MANAUS
 Telefone: (92)2127-3572 Fax: (92)2127-3572 E-mail: cep@fmt.am.gov.br

Anexo 2

Características gerais

Page 1

Prontuário:

Número de recrutamento:

Data de admissão hospitalar:

Data de recrutamento:

Nome completo:

(Insira o nome completo do paciente)

Origem:

(Insira o município de origem do paciente)

Contato:

(Insira o contato telefônico ou e-mail fornecido)

Data de nascimento:

Idade:

Raça:

- Branca
- Negra
- Asiática
- Indígena
- Parda
- N/A

Altura (cm):

Massa corporal (kg):

IMC

Sexo:

- Feminino
- Masculino
