

ÉRIKA FERRARI RAFAEL DA SILVA

**MARCADORES DE DOENÇA ATEROSCLERÓTICA EM
PACIENTES INFECTADOS PELO HIV SEM TRATAMENTO
ANTIRRETROVIRAL.**

Tese apresentada à Universidade Federal de São
Paulo – Escola Paulista de Medicina para
obtenção do título de Doutor em Medicina

São Paulo
2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

ÉRIKA FERRARI RAFAEL DA SILVA

**MARCADORES DE DOENÇA ATEROSCLERÓTICA EM
PACIENTES INFECTADOS PELO HIV SEM TRATAMENTO
ANTIRRETROVIRAL.**

Tese apresentada à Universidade Federal de São
Paulo – Escola Paulista de Medicina para
obtenção do título de Doutor em Medicina

Orientador: Prof. Dr. David Salomão Lewi

Co-orientador: Prof. Dr. Francisco A. H. Fonseca

Co-orientador: Profa. Dra. Maria Cristina O Izar

São Paulo
2010

Silva, Erika Ferrari Rafael da

Marcadores de doença aterosclerótica em pacientes infectados pelo HIV sem tratamento antirretroviral. /

Erika Ferrari Rafael da Silva --São Paulo, 2010.

xix, 74f.

Tese (Doutorado) Universidade Federal de São Paulo.
Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-graduação em
Infectologia.

Título em inglês: Atherosclerotic Markers in HIV-
infected naïve patients .

1. Síndrome da Imunodeficiência Adquirida. 2.
Aterosclerose. 3. Células Endoteliais. 4. Células Tronco. 5.
Micropartículas Derivadas de Células. 6. Proteína C-
Reativa. 7. Humanos.

DISCIPLINA DE INFECTOLOGIA

Chefe do Departamento: Prof. Dr. Eduardo A. Servolo de Medeiros

Coordenador do Curso de Pós-Graduação: Prof. Dr. Ricardo Sobhie Diaz

Dedicatória

***“Aos meus pais, pelo amor incondicional, pela força,
apoio e carinho em todas as horas.”***

***“A minha avó, que tanta saudade deixou, o meu mais
profundo sentimento de gratidão e amor eterno”***

“Se quer viver uma vida feliz, amarre-se a uma meta, não às pessoas nem às coisas”

Albert Einstein

Apresentação

O que tenho para dizer aqui é que as próximas páginas representam o fruto de uma dedicação enorme que se resumem a uma frase já conhecida: “Medicina, paixão sem remédio”. Atualmente muitos vêem a medicina como a alavanca para o “*status*”. Ser médico é realmente ser chique, importante e rico? A medicina tem que ser exercida com amor e dedicação, pois lida com vidas muitas vezes aflitas que precisam de um consolo, de conforto e de precisão. Às vezes a frieza também é necessária, faz parte do ofício. Não é fácil revelar um diagnóstico a alguém, você tem que saber fazer, pois as palavras têm poder e podem destruir com uma vida em instantes.

A figura do médico é muito importante para o paciente, muitos vêm no médico aquele amigo que não tem na vida real, uma pessoa com quem podem contar e desabafar suas aflições, sem que aquelas revelações caiam na “rede”. Confesso que nasci para ser médica, apesar de ser apaixonada por línguas estrangeiras e já ter pensado em ser diplomata. Não consigo imaginar a minha vida longe dos pacientes que tanto me ensinaram até aqui e que ainda me ensinarão.

O caminho para se alcançar um objetivo é longo, cheio de obstáculos e pedras, mas cabe a nós, com muita força de vontade e perseverança lutar e triturar as pedras, para que elas virem pedregulhos e facilitem a jornada.

Consegui fazer das pedras, pedregulhos e chegar até aqui hoje com muita alegria, satisfação e alívio por ter alcançado as minhas metas. Não quero nada não seja meu, não vou derrubar ninguém para alcançar as minhas metas, quero ser honesta e no dia final, olhar para trás e ter orgulho de tudo o que fiz. Para terminar repito a frase de um dos homens mais célebres da humanidade: ***“Temos o destino que merecemos. O destino está de acordo com os nossos méritos”***. ***Albert Einstein.***

Érika

Este trabalho foi realizado com auxílio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) processo: 2008/55223-6. E sob a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFESP/EPM, sob o número 0874/08 .

Agradecimentos

Ao plano superior em primeiro lugar por ter me deixado aqui após 26/03/2009. Sem minha vida e saúde em perfeitas condições eu jamais teria chegado ao fim.

Ao meu orientador, Prof Dr David Salomão Lewi, pela paciência, transmissão de experiência, ajuda e pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Francisco Antonio Helfstein Fonseca, meu co-orientador, pelo qual tenho profunda admiração, possuidor de uma mente inesgotável de idéias para pesquisa, sempre de prontidão e disposto a discutir dúvidas, problemas e soluções ao longo desta jornada.

Ao colega Dr. Paulo Roberto Abrão Ferreira pela ajuda na realização da análise estatística desta tese e pelo ombro amigo nas horas de desespero.

À Profa. Dra. Maria Cristina Izar pela ajuda na realização da análise desta tese e por ser uma mulher de muita fibra e uma pesquisadora exemplar.

Ao Prof. Dr. Reinaldo Salomão e a Dra. Milena Brunati pela ajuda inestimável para a realização dos exames de citometria de fluxo.

A colega Carolina Nunes França pela ajuda em todos os momentos (indicação de artigos sobre células endoteliais progenitoras e micropartículas e pelo trabalho exemplar na realização da citometria de fluxo). Não podia deixar de agradecer também pela paciência ao longo da jornada e pelo ombro amigo nas horas de desespero.

Ao colega Luciano Monteiro de Camargo pela realização dos exames de ultrassonografia e dilatação mediada pelo fluxo.

Ao colega Dr. Carlos Manoel C. Monteiro pela ajuda e pelos ensinamentos sobre ultrassonografia de carótida e dilatação mediada pelo fluxo.

A CAPES pela bolsa de doutorado e ajuda na aquisição de materiais para a realização desta pesquisa.

A FAPESP pelo auxílio à pesquisa.

À UNIFESP pelo acolhimento como aluna da pós-graduação.

À Disciplina de Infectologia pelo apoio para a realização desta pesquisa.

Aos meus amigos de todas as horas: Aline Stella Horie, Christiane Castroviejo, Daniel da Matta, Fabio Luis Nascimento Nogui, Flavia Alves Rossini, Kátia Mioto, Marli, Marilúcia Ferrari, Solange Martins e Willian Maranhão. (em ordem alfabética).

Ao meu irmão Ralfi Rafael que ele exerça a sua vontade em busca dos seus objetivos.

A meu namorado Douglas Lopes Bellucci que muita paciência teve ao longo do tempo para suportar meu nervosismo e ansiedade e que muito me ajudou na formatação da tese e do banco de dados.

Aos meus colegas do ambulatório de Lípidos, Biologia Vascular e Aterosclerose da Disciplina de Cardiologia: Soraia H. Kasma, Daniela Tegani, Celma Muniz, Henrique Tria Bianco, Silvio, Carlos Eduardo, Pinheiro, Simone Fischer, Simone e Tatiana Helfestein.

As funcionárias do ambulatório de Lípidos, Biologia Vascular e Aterosclerose da Disciplina de Cardiologia: Darce Alves de Santana Costa, Thereza Monteiro, Ana Maria Máximo Cardoso e Cristina Helena Biava e Monica.

Aos colegas de ambulatório que muito me ajudaram na seleção de pacientes: Simone B. Tenore e Mariana.

As enfermeiras Marli de Fátima Oliveira Campos e Rosemeire Gabriel, exemplos de profissionalismo e amizade e que além de todo o trabalho ainda me ouviam nas horas de calamidade.

Às técnicas de enfermagem Erica e Milda R. Jesus, pelo auxílio na coleta de sangue dos pacientes.

Ao secretário Danilo Araújo Dias do Ambulatório de Infectologia da UNIFESP por todo seu trabalho e pela ajuda na organização do ambulatório.

Ao farmacêutico Ronildo Azevedo Farias pelo seu carinho e ajuda em todas as horas

A secretária da Disciplina de Infectologia Tereza Cristina, pelo seu trabalho.

Ao ex-secretário da pós-graduação da Disciplina de Infectologia Antonio Charlys da Costa, uma pessoa muito prestativa, muito obrigada.

A secretária do ambulatório de infectologia, Cristiane Sales, pelo seu carinho, ajuda e ombro amigo.

A todos os (as) funcionários (as) dos Laboratórios Central, de Retrovirologia e AFIP pela ajuda na realização dos exames desta pesquisa.

A todos os amigos do Ambulatório de Infectologia, Ambulatório de Lípidos, Biologia Vascular e Aterosclerose, e Secretaria da pós-graduação da Disciplina de Infectologia da Universidade Federal de São Paulo, muito obrigada.

A todos os pacientes do ambulatório da Disciplina de Infectologia da UNIFESP e aos voluntários (as), sem o qual esta pesquisa não seria possível.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	iv
APRESENTAÇÃO	vi
AGRADECIMENTOS	vii
LISTAS	xiii
RESUMO	xix
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 O PAPEL DO HIV NA DOENÇA CARDIOVASCULAR	3
1.1.1 HIV E ATROSCLEROSE	3
1.1.2. FUNÇÃO ENDOTELIAL E A INFECÇÃO PELO HIV	5
1.2 NOVOS BIOMARCADORES DE RISCO PARA DOENÇA CARDIOVASCULAR	7
1.2.1 CÉLULAS ENDOTELIAIS PROGENITORAS	7
1.2.2 MICROPARTÍCULAS	9
1.2.3. PROTEÍNA C REATIVA DE ALTA SENSIBILIDADE	11
2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	13
3. OBJETIVOS	14
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS	15
4.1. ASPECTOS ÉTICOS	15
4.2. SELEÇÃO DE PACIENTES	15
4.3. AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA	16
4.4. AVALIAÇÃO FÍSICA	18
4.4.1. MEDIDA DA PRESSÃO ARTERIAL	18
4.4.1.2. CLASSIFICAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL	18
4.4.2. AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	18
4.4.3.. ÍNDICE DE MASSA CORPÓREA	19
4.4.4. RAZÃO CINTURA QUADRIL	19
4.5. AVALIAÇÃO DO ESPESAMENTO MÉDIO INTIMAL	20
4.6. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL	21
4.7. QUANTIFICAÇÃO POR CITOMETRIA DE FLUXO	22
4.7.1. CÉLULAS ENDOTELIAIS PROGENITORAS	22
4.7.8 MICROPARTÍCULAS ENDOTELIAIS E PLAQUETÁRIAS	23
4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
5. RESULTADOS	28
5.1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS	28
5.2. PERFIL IMUNOLÓGICO DOS PACIENTES INFECTADOS PELO HIV	29
5.3. PERFIL LIPÍDICO E APOLIPOPROTEÍNA B	29
5.4 GLICEMIA E PROTEÍNA C REATIVA	29

5.5. ESPESSAMENTO MÉDIO INTIMAL.....	30
5.6. ESTUDO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL.....	31
5.7 CÉLULAS ENDOTELIAIS PROGENITORAS E MICROPARTÍCULAS.....	31
5.7.1 CÉLULAS ENDOTELIAIS PROGENITORAS	31
5.7.2 MICROPARTÍCULAS	32
6. DISCUSSÃO	33
7. CONCLUSÕES	42
8. ANEXOS.....	43
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
ABSTRACT	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fatores que influenciam a formação das micropartículas	11
Figura 2. Citometria de Fluxo com identificação das micropartículas.....	25
Figura 3. Espessamento médio intimal da carótida direita	30
Figura 4. Espessamento médio intimal da carótida esquerda	30
Figura 5. Dilatação mediada pelo fluxo	31

Lista de Tabelas

Tabela 1. Resumo dos principais fatores que influenciam as células endoteliais progenitoras	8
Tabela 2. Dados demográficos da população em estudo.....	28
Tabela 3. Perfil Lipídico entre os pacientes infectados pelo HIV.	29
Tabela 4. Caracterização e quantificação de células endoteliais progenitoras e micropartículas entre grupo infectado pelo HIV e controle.	32

Lista de Quadros

Quadro 1. Valores de referência e metodologia dos exames bioquímicos.....	17
Quadro 2. Classificação da Pressão Arterial.....	18
Quadro 3. Classificação do índice de massa corpórea para indivíduos menores de 60 anos	19
Quadro 4. Classificação da Razão Cintura/Quadril (RCQ).....	20

Lista de Abreviaturas e Símbolos

ACTG	Aids Clinical Trials Group Study
ATP III	III Adult Treatment Panel
AZT	Zidovudina
b-FGF	Fator de crescimento básico de fibroblastos
CD	Conservação de droga
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CEP	Células Endoteliais Progenitoras
CMV	Citomegalovírus
CT	Colesterol total
D:A:D	Data Collection of Adverse Events of Anti-HIV Drugs
DAC	Doença Arterial Coronariana
DCV	Doença cardiovascular
DDB1	Diâmetro Diastólico Máximo em repouso – basal 1
DDHR	Diâmetro Diastólico Máximo na fase de hiperemia
DMF	Dilatação Mediada pelo fluxo
DP	Desvio padrão
DM	Diabetes Mellitus
E	Estatura
ECG	Eletrocardiograma
ERF	Escala de Risco de Framingham
F	Feminino
GP	Glicoproteína
HAART	Terapia antirretroviral de alta potência
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade
HFA	História Familiar de Aterosclerose
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HSP	Hospital São Paulo
IL-1 β	Interleucina-1 beta
IL-10	Interleucina-10
IM	Infarto do Miocárdio
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IFN- γ	Intérferon-gama
IMC	Índice de massa corpórea
IMT-c	Espessamento médio intimal
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IP	Inibidor da protease
ITRN	Inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo

ITRNN	Inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
LPS	Lipopolissacarídeo
M	Masculino
MP	Micropartícula
ON	Óxido Nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde
P	Peso
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PBA	Solução isotônica
PCRs	proteína C reativa de alta sensibilidade
PPP	Plasma pobre em plaquetas
RI	Resistência à insulina
SCA	Síndrome Coronariana Aguda
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
s-ICAM1	Molécula de Adesão Intracelular tipo 1
SMART	Strategies for Management of Antiretroviral Therapy
s-TNFR2	Receptor tipo 2 para o fator de necrose tumoral
SV	Supressão Viral
TARV	terapia antirretroviral
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG	Triglicérides
TNF- α	Intérfon alfa
UNAIDS	The Joint United Nations Programme on HIV/Aids
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
VCAM-1	Molécula de adesão intracelular tipo 1
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

Anexos

Anexo 1. TCLE - Voluntários.....	46
Anexo 2. TCLE – Pacientes	49
Anexo 3. Questionário.....	52
Anexo 4. Valores de Referência para o diagnóstico da dislipidemia em adultos acima de 20 anos.....	54
Anexo 5. Técnicas para a realização pressão arterial.	55
Anexo 6. Técnica de Medição de Peso e Estatura	56
Anexo 7. Técnica de Medição da Circunferência Abdominal e do Quadril.....	57
Anexo 8. Resultados da contagem das células endoteliais progenitoras e micropartículas no grupo infectado pelo HIV	58
Anexo 9. Resultados da contagem das células endoteliais progenitoras e micropartículas no grupo controle.....	59

Resumo

Introdução: Pela efetividade da TARV, a infecção pelo HIV/aids adquiriu um caráter de maior cronicidade e menor letalidade. Se por um lado as mortes por doenças relacionadas à imunodepressão estão diminuindo, a proporção de óbitos por causas não relacionadas à aids, incluindo por doença cardiovascular está aumentando, parte como consequência de eventos adversos relacionados ao tratamento.

Objetivos: Quantificar o número de células progenitoras endoteliais (CEP) e micropartículas (MP) em pacientes infectados pelo HIV, sem prévio tratamento antirretroviral e comparar com um grupo controle. Além do perfil bioquímico, examinar a aterosclerose subclínica por meio do espessamento médio intimal carotídeo e função endotelial pela dilatação mediada pelo fluxo.

Métodos: Estudo tipo coorte transversal, pareado por idade e sexo, com análise cega dos objetivos dos biomarcadores. Quantificação de CEP e MP por citometria de fluxo, aterosclerose subclínica e função endotelial por eco - Doppler com transdutor linear de alta resolução. Foram incluídos 68 indivíduos (35 HIV+ e 33 controles), com mediana de idade de 33 anos, sendo 80% do sexo masculino e da raça branca.

Resultados: O perfil lipídico diferiu entre os grupos para o colesterol total 156 mg/dL e 173 mg/dL ($p = 0,02$) e HDL-c 37 mg/dL e 47 mg/dL ($p = 0,001$), para os pacientes dos grupos caso e controle, respectivamente. A contagem das CEP foi menor nos pacientes infectados pelo HIV quando comparado aos controles para CD34+/KDR+ [0.02% vs. 0.09%, $p=0.045$]; mas não para CD34+/CD133+ ou KDR+/CD133+. O número médio de MP plaquetárias foi semelhante entre os grupos sendo 24 992 por μL de plasma no grupo infectado pelo HIV e 26 642 μL de plasma no controle ($p = 0.83$). A contagem das MP endoteliais/ μL de plasma diferiu entre os grupos, sendo maior no grupo infectado pelo HIV em relação ao controle (1963 *versus* 436, $p = 0.003$). A medida do espessamento médio intimal foi similar entre os grupos, mas foi observada menor dilatação mediada pelo fluxo [média (DP)] para o grupo caso [9% (5%) *versus* 16% (10%), $p= 0,03$].

Conclusões: Pacientes HIV+, previamente a TARV apresentaram menor quantidade de CEP e maior de MP endoteliais, ao lado de disfunção endotelial.

1. INTRODUÇÃO

Os dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) e *The Joint United Nations Programme on HIV/Aids* (UNAIDS) mostram uma estimativa global para a epidemia, no final de 2008, de cerca de 33,4 milhões de pessoas (31,1-35,8 milhões) vivendo com aids, 2,7 milhões de novas infecções e 2,0 milhões de mortes devido ao HIV/aids ⁽¹⁾. Desde a descrição dos primeiros casos em 1981, estima-se que mais de vinte e cinco milhões de pessoas tenham morrido devido à aids ⁽¹⁾. Na América Latina em 2008, estima-se 2,0 milhões de pessoas vivendo com aids, 170.000 novos infectados e 77.000 óbitos em adultos e crianças ⁽¹⁾. No Brasil, de 1980 até junho/2009, foram notificados 544.846 casos de aids, sendo 356.427 no sexo masculino e 199.396 no sexo feminino ⁽²⁾. Observa-se que a razão de sexo (M:F) diminuiu consideravelmente, no início da epidemia chegava-se a 15:1 e a partir de 2002 ocorreu uma estabilização com proporção entre homens e mulheres de 1,5:1 ⁽²⁾.

Antes do advento da terapia antirretroviral altamente potente (TARV), as maiores causas de óbito nas pessoas infectadas pelo HIV eram primariamente as infecções oportunistas que acompanham a imunossupressão grave desta doença ⁽³⁾. Desde a introdução da TARV, a expectativa de vida nestes pacientes aumentou em média 13 anos ou mais ⁽³⁾. Pela efetividade da TARV, a infecção pelo HIV/aids adquiriu um caráter de maior cronicidade e menor letalidade ^(3,4). Se por um lado as mortes por doenças relacionadas à imunodepressão estão diminuindo, a proporção de óbitos por causas não relacionadas à aids, incluindo por doença cardiovascular (DCV) está aumentando, parte como consequência de eventos adversos relacionados ao tratamento ⁽⁵⁾.

Estes efeitos adversos relacionados à TARV incluem mudanças na silhueta corpórea relacionadas à redistribuição de gordura e alterações do metabolismo lipídico, glicídico e ósseo ⁽⁶⁾. O padrão destas alterações metabólicas nos pacientes que estão recebendo TARV assemelha-se ao observado na síndrome metabólica, condição associada a maior risco de DCV. Existem dúvidas, entretanto, se as mudanças metabólicas são causadas

exclusivamente pela TARV ou diretamente pelo HIV. A própria viremia pode aumentar a atividade inflamatória que provoca lesão endotelial, podendo contribuir para aumento da prevalência de aterosclerose e risco cardiovascular nesta população⁽⁷⁻⁹⁾. O elo entre disfunção endotelial e aterosclerose constitui a base da doença arterial coronariana (DAC) na população em geral e pode muito provavelmente, estar presente nos pacientes infectados pelo HIV. Além disso, dislipidemia e inflamação endovascular, constituem fatores importantes na iniciação, progressão do ateroma e ruptura da placa aterosclerótica⁽¹⁰⁻¹⁴⁾

O primeiro relato de infarto agudo do miocárdio (IAM) em pacientes infectados pelo HIV em uso de TARV foi descrito por Eriksson U⁽¹⁵⁾ em 1998, desde então, tem se observado que esta população está sob maior risco para desenvolvimento de DCV⁽¹⁵⁻¹⁸⁾. Entretanto, os mecanismos relacionados ao maior potencial de DCV nesta população ainda não estão completamente elucidados.

Os eventos cardiovasculares ou cerebrais são manifestações terminais da aterosclerose sendo evidenciados por métodos diretos como a cinecoronarioangiografia, ou não invasivos como a angiotomografia coronariana, a medida da espessura média intimal (IMT-c), e da função endotelial medida através da dilatação mediada pelo fluxo (DMF). Atualmente procuram-se marcadores que possibilitem melhor estratificação do risco cardiovascular e da aterosclerose, como a avaliação do perfil lipídico (colesterol total e frações, triglicérides, apolipoproteína A e B) e biomarcadores inflamatórios como a proteína C reativa de alta sensibilidade (PCRas). Recentemente a identificação de células endoteliais progenitoras (CEP) no plasma passou a ser quantificada em várias condições clínicas, associando-se sua diminuição à maior presença de fatores de risco clássicos e risco cardiovascular^(19,20). Todas estas condições podem determinar maior taxa de apoptose do endotélio vascular, levando a produção de micropartículas (MP), também detectadas no plasma^(21,23). Assim, estes marcadores da DCV podem estar associados ao desenvolvimento prematuro da doença vascular entre os pacientes infectados pelo HIV.

1.1 O papel do HIV na doença cardiovascular

1.1.1 HIV e aterosclerose

A hipótese do envolvimento de agentes infecciosos na aterosclerose é sugerida por vários estudos epidemiológicos e evidências experimentais ⁽²⁴⁻²⁷⁾. O estágio inicial da aterosclerose é representado pelo prejuízo da função endotelial, o qual é caracterizado pela alteração da capacidade da parede arterial em sofrer vasodilatação e pela expressão de moléculas capazes de se ligarem aos leucócitos ⁽²⁸⁾. Este prejuízo da vasoatividade arterial é frequentemente observado em associação com vários fatores de risco cardiovascular tais como hipercolesterolemia, hipertensão arterial, diabetes *mellitus* (DM) e tabagismo, e também ocorre gradativamente com o avançar da idade ^(29,30). Tem sido sugerido que uma infecção sustentada por agentes virais ou bacterianos poderia causar lesão endotelial favorecendo o aparecimento e progressão do processo aterosclerótico ^(31,32).

Nos últimos anos vários trabalhos mostraram um aumento da doença aterosclerótica prematura nos pacientes infectados pelo HIV mesmo sem exposição à TARV ^(16,17,33-35). Estas pesquisas descreveram lesões ateroscleróticas em artérias coronárias de adultos jovens infectados pelo HIV e achados semelhantes foram relatados ainda mais precocemente em crianças antes da introdução da zidovudina (AZT) ⁽³³⁻³⁵⁾.

A aterosclerose é uma doença inflamatória em que mecanismos imunes incluindo monócitos, células T e citocinas associadas a eles e seus receptores estão envolvidos em todos os seus estágios de desenvolvimento ⁽³⁶⁻⁴¹⁾. Nos humanos são encontradas sub-populações de monócitos, como CD14+CD16- e CD14+CD16+ ⁽⁴²⁾. Os monócitos CD14+CD16+ estão presentes em níveis elevados em pacientes com DAC quando comparados a controles, e um estudo mostra a expansão destes monócitos na infecção pelo HIV ^(42,43). Os monócitos CD14+CD16- comparados aos do tipo CD14+CD16+ produzem altas quantidades de TNF α que estimula os lipopolissacarídeos (LPS) e levando a produção de menores quantidades da citocina antiinflamatória IL-10 ⁽⁴²⁾. Tilton *et al* ⁽⁴⁵⁾ observaram em pacientes infectados pelo HIV com ou sem TARV, alta produção espontânea de citocinas inflamatórias por monócitos como TNF- α (interferon- α), IL-1 β e IL-6 comparado

a controles. No estudo de Lederman *et al* ⁽⁴⁶⁾ os níveis de IL-6 também foram correlacionados com os níveis de RNA-HIV entre os pacientes com infecção avançada pelo HIV .

As células T ativadas também têm um papel importante na inflamação vascular e estão presentes nas placas ateroscleróticas ⁽⁴⁷⁾. A infecção pelo HIV é um estado de ativação de células T caracterizado pelo aumento do *turnover* de linfócitos T CD4+ e CD8+ ^(48,49). Além disso, a infecção pelo citomegalovírus (CMV) também tem sido responsabilizada na patogênese da aterosclerose ⁽⁵⁰⁾ e pode ter um papel importante na doença aterosclerótica associada com o HIV. Hsue *et al* ⁽⁵¹⁾ relataram que pacientes infectados pelo HIV têm altos níveis de PCR, linfócitos T CD4+, ativação de linfócitos T CD8+ e maiores níveis de resposta de célula T específica para CMV. Entre todos estes fatores, os autores encontraram que a resposta de célula T específica para CMV (medida pela expressão de IFN- γ após a exposição aos antígenos peptídicos pp65 do CMV) estavam independentemente associadas ao maior IMT-c nesta população ⁽⁵¹⁾.

As concentrações circulantes de moléculas de adesão intracelular tipo 1 (VCAM-1) também têm sido descritas em níveis elevados em pacientes infectados pelo HIV quando comparado a controles não infectados, e estão diretamente relacionadas com o grau de inflamação (s-TNFR2) ^(52,53). A infecção pelo HIV não tratada também foi associada com altos níveis de interleucina-6 (IL-6) e dímero D, que por sua vez, foram preditivos de mortalidade por todas as causas e, em menor medida por DCV ⁽⁵⁵⁻⁵⁵⁾.

Existem estudos usando o IMT-c para avaliar a presença da aterosclerose subclínica em pacientes infectados pelo HIV ^(56,57). O IMT-c da carótida é um reconhecido marcador de aterosclerose e seu aumento está associado a várias condições clínicas de risco para DCV, além de ser preditor de IAM e acidente vascular cerebral (AVC) ^(56,58-67).

Deste modo, indivíduos infectados pelo HIV podem estar sob risco aumentado de DCV tanto pelo fato da infecção *per se* produzir inflamação vascular que contribui para a disfunção endotelial e desenvolvimento de aterosclerose como pelo uso da TARV, em particular dos inibidores da protease (IP), frequentemente utilizados no tratamento que podem induzir a perfil lipídico aterogênico ⁽¹⁰⁻¹²⁾.

1.1.2. Função Endotelial e a Infecção pelo HIV

Já está bem estabelecido que a adesão leucocitária e a proliferação de células musculares lisas são fatores associados ao desenvolvimento, progressão e manifestação clínica da aterosclerose ⁽⁶⁵⁻⁶⁹⁾. O endotélio está envolvido em importantes mecanismos homeostáticos, regulação do tônus vascular e imunomodulação ^(66,70). Quando há lesão do endotélio, ocorre uma resposta inflamatória que pode levar ao desenvolvimento de eventos trombóticos oclusivos mediados pelo recrutamento de leucócitos, adesão e agregação plaquetárias, ativação da cascata da coagulação e desarranjo da fibrinólise ^(69,71). O endotélio ajuda na manutenção da saúde vascular pela liberação de fatores parácrinos e autócrinos tais como o óxido nítrico (ON). Ele promove o relaxamento muscular, inibição da agregação e adesão plaquetárias, vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo, deste modo, a geração do ON é protetora contra a aterogênese ⁽⁷²⁾. Uma redução na sua liberação indica disfunção endotelial sendo considerada uma evidência precoce de aterosclerose ⁽⁷²⁻⁷⁴⁾.

Várias condições clínicas como hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia e DM contribuem para a disfunção endotelial, que também podem estar associadas com infecção, inflamação e aterosclerose ^(66,70,75-77). As complexas associações entre infecção, inflamação e endotélio são conhecidas há tempos, mas os mecanismos inter-relacionados ainda não foram completamente elucidados. A aterosclerose pode se desenvolver a partir de uma lesão endotelial desencadeada por uma infecção bem como por um processo inflamatório de longa duração caracterizado por conseqüências clínicas graves e frequentemente fatais ⁽⁷⁸⁾. Dentre os agentes infecciosos estudados na indução da resposta inflamatória nas células endoteliais (como *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae*, CMV, vírus do herpes simples e vírus Epstein-Barr), o HIV representa o exemplo mais recente ⁽⁷⁸⁾.

O HIV aderido ao endotélio leva a uma resposta inflamatória localizada determinando lesão endotelial e suas conseqüências já descritas anteriormente ^(79,80). A ligação do HIV nas células endoteliais ocorre via linfócito T CD4+, receptores galactosil ceramida ou receptores de quimiocinas ⁽⁷⁹⁻⁸¹⁾. A ativação endotelial também pode ocorrer pela secreção de citocinas em

resposta a ativação das células mononucleares ou adventícias pelo HIV ou pelos efeitos das glicoproteínas 120 e *Tat*, ambas secretadas pelo HIV no endotélio ^(79,80). A molécula de adesão intracelular (sICAM-1) e a P-selectina são fatores implicados no IM e altos níveis destas moléculas são considerados marcadores precoces do desenvolvimento de aterosclerose ^(75,82,83). Existe também a participação de outras moléculas como fator ativador do plasminogênio tecidual (t-PA) e o inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1) como marcadores da disfunção endotelial ^(84,85). Níveis aumentados de moléculas de adesão solúveis foram documentados em diferentes estágios da infecção pelo HIV ^(86,87).

A possibilidade da indução diretamente pela TARV na ativação endotelial também já foi descrita. Zhong *et al* ⁽⁸⁵⁾ que demonstraram que o IP ritonavir, em concentrações comparáveis àquelas obtidas *in vivo*, foram capazes de causar diretamente prejuízo ao DNA mitocondrial endotelial e a morte celular (principalmente através da necrose ao invés de apoptose). Um experimento com voluntários sadios demonstrou que a administração do IP Indinavir durante quatro semanas levou a alteração da produção de ON ocasionando disfunção endotelial ⁽⁸⁸⁾. Este IP, entretanto, é pouco utilizado atualmente, e os IP Atazanavir e Lopinavir/ritonavir não apresentaram efeitos prejudiciais na função endotelial em voluntários sadios em análise semelhante ⁽⁸⁸⁾. Estes dados mostram que o efeito na função endotelial dos IP pode diferir e deve ser avaliado de modo individual ao invés de se atribuir um efeito a toda uma classe de medicamentos. De modo contrário ao descrito, no estudo prospectivo de Torriani *et al* ⁽⁸⁹⁾ com pacientes sem prévia exposição à TARV, foi observada melhora da função endotelial após 24 semanas, independentemente do esquema utilizado, sugerindo que em curto prazo, a TARV reduz a disfunção endotelial mesmo quando os IP são utilizados.

Esperava-se com a introdução da TARV, não apenas uma diminuição da carga viral, mas também da inflamação. Entretanto, considerando-se, que estas drogas também induzam alterações pró-inflamatórias pela alteração do perfil lipídico, elas possam paradoxalmente promover a aterosclerose ⁽⁹⁰⁾. Existe, portanto, uma redução da carga viral do HIV, mas não do seu potencial inflamatório. Outro fator além do uso dos IP

que pode contribuir para a disfunção endotelial nos pacientes infectados pelo HIV é a lipodistrofia, que está associada à resistência à insulina, alterações lipídicas, estado inflamatório persistente e alterações de adipocinas^(91,92)

A avaliação da disfunção endotelial pode ser realizada por meio da DMF, método não invasivo e validado⁽⁹³⁻⁹⁵⁾. Indivíduos com DAC podem exibir um prejuízo da DMF da artéria braquial⁽⁹⁵⁻⁹⁷⁾. Em resumo, o endotélio pode ser ativado diretamente pelo HIV *per se* ou pela cascata inflamatória mediada por leucócitos desencadeada pela infecção por este vírus. A ligação entre os achados *in vitro* e clínicos ainda não foi completamente elucidada. A capacidade do HIV de infectar transitoriamente as células endoteliais, seja direta ou indiretamente, poderia implicar este como principal mecanismo responsável pelo aumento das moléculas de adesão no plasma⁽⁷⁸⁾.

1.2 Novos biomarcadores de risco para doença cardiovascular

1.2.1 Células Progenitoras Endoteliais

Em 1997, Asahara *et al*⁽⁹⁹⁾ descreveram pela primeira vez, no plasma, a existência das células endoteliais progenitoras (CEP) derivadas da medula óssea. Estas células contribuem para reendotelização dos vasos após lesão, apoptose ou erosão e neovascularização de territórios isquêmicos, sugerindo que exerçam importante papel modulador da aterosclerose e da DCV. Sabe-se hoje após inúmeros estudos que o número e função das CEP são regulados por fatores de crescimento angiogênicos, citocinas e quimiocinas em resposta a isquemia ou injúria vascular. Mudanças no estilo de vida, tais como exercício aeróbico, suspensão do tabagismo e tratamento farmacológico com inibidores do sistema renina-angiotensina, estatinas, eritropoetina, estrógeno entre outros também interferem nas CEP (Tabela 1). Werner *et al*⁽¹⁰⁰⁾ estudaram a relação entre morte cardiovascular e número de CEP e observaram que indivíduos com elevados níveis de CEP na condição basal apresentaram menor taxa de morte em um ano de seguimento, além de recidiva clínica da doença coronariana. Estes achados sugerem que a

regulação do número e função destas células tem influência direta na manutenção e desenvolvimento da DCV ⁽¹⁰¹⁾.

Tabela 1: Resumo dos principais fatores que influenciam as Células Endoteliais Progenitoras.

Aumento do número das CEP	Diminuição do número das CEP
Fisiológico: desenvolvimento embrionário, Hipóxia, exercício físico	Fisiológicos: idade avançada
Patológico: insuficiência cardíaca (fase inicial), IAM, injúria cirúrgica, isquemia tecidual local, trauma vascular	Patológicos: DM, hipercolesterolemia, angina, insuficiência cardíaca (fase avançada), disfunção erétil, uremia, insuficiência renal terminal, hiperhomocisteinemia, aumento PCR, artrite reumatóide, AVC
Medicamentos: estatinas, eritropoetina, estrógeno, niacina (baixas doses), antagonistas dos receptores tipo I da angiotensina II, rosiglitazona, Ginkgo biloba	Medicamentos: terapia com iodo, rapamicina,
Outros: VEGF, GM-CSF, angiopoetina tipo 1, anticorpos de células endoteliais, óxido nítrico, <i>shear stress</i> laminar, hemodiálise	Outros: tabagismo, hemodiálise

Fonte: (Umemura T, 2008, Vasa M, 2001, Umemura T, 2007 e 2008, Urbich C 2005) ^(20,101-103).

Legenda: IAM (infarto agudo do miocárdio), fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), fator estimulador de colônia de granulócito (G-CSF) e fator celular 1 derivado do estroma (SDF-1), Shear stress (pressão de arrasto hemodinâmico), PCR (proteína C reativa) e AVC (acidente vascular cerebral)

Há diferentes fontes de CEP, não apenas a medula óssea, mas no cordão umbilical, fígado e baço. Estas células são caracterizadas pelas proteínas de superfície CD34, CD133 e KDR ⁽¹⁰⁰⁾. No seu estágio de maturação, elas expressam marcadores protéicos endoteliais que incluem: caderina VE, fator *Von Willebrandt*, KDR e óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS). Além disso, podem ser definidas pela sua capacidade funcional de formar colônias de células endoteliais e aumentar a expressão da eNOS após a exposição à pressão de arrasto hemodinâmico (*shear stress*) ^(104,105).

Estas células-tronco ou progenitoras podem contribuir para a regeneração cardíaca de várias maneiras: diferenciação em linhagens endotelial e cardíaca bem como a migração para o sítio isquêmico e liberação de fatores parácrinos ⁽¹⁰⁵⁾. Além disso, as células mononucleares derivadas da medula óssea liberam fatores de crescimento angiogênicos tais como o fator de

crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento básico de fibroblastos (bFGF) e angiopoetinas, aumentando deste modo, a resposta angiogênica local ⁽¹⁰⁶⁾.

O mecanismo subjacente a esta diminuição no número ou função das CEP em pacientes com DCV ainda não está completamente esclarecido. Acredita-se que as CEP circulantes no sangue periférico estejam diminuídas predominantemente pela redução da mobilização na medula óssea ao invés de uma depleção medular.

1.2.2 Micropartículas

Assim como as CEP as MP também podem se tornar um novo biomarcador. Elas são vesículas pequenas (0.1-1µm) ligadas à membrana celular que circulam no sangue e podem mediar a inflamação e trombose ⁽²³⁾. Todos os tipos celulares submetidos à ativação química, física [trombina, endotoxina ou *shear stress* (pressão de arrasto hemodinâmico), respectivamente] ou apoptose (fatores de privação de crescimento ou indutor de apoptose) podem eventualmente liberar fragmentos de membrana chamados de MP ⁽²¹⁾. O mecanismo de geração das MP é complexo e ainda não foi completamente elucidado.

As MP mais abundantes no sangue são as geradas a partir das plaquetas, mas elas também podem ser originárias dos leucócitos, eritrócitos, e de células que compõem a parede vascular, principalmente macrófagos, células endoteliais e musculares lisas. As MP endoteliais podem se originar das células endoteliais circulantes maduras e daquelas provenientes da parede celular. Não se pode excluir a possibilidade de algumas MP circulantes serem originadas de células progenitoras porque elas compartilham marcadores protéicos semelhantes ⁽¹⁰⁷⁾.

As MP abrigam na sua superfície, antígenos característicos da célula das quais se originaram, o que permite a sua caracterização. Deste modo podem ser quantificadas e a sua origem celular revelada por meio de ensaios de captura ou citometria de fluxo ⁽¹⁰⁸⁾.

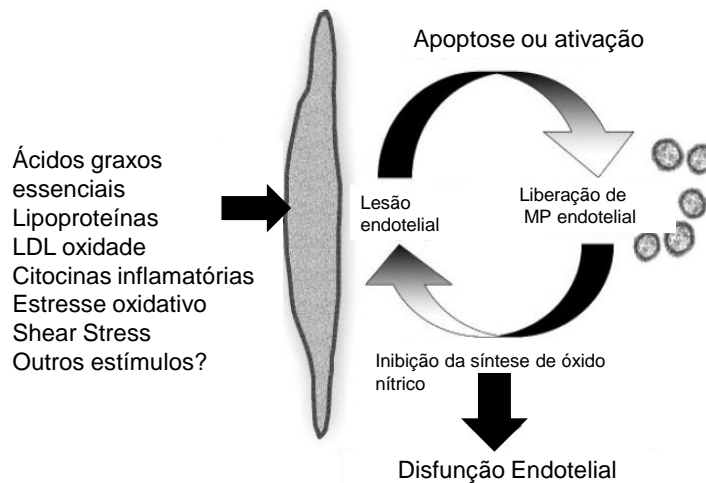
Os complexos de adesão funcional, tais como glicoproteínas IIb-IIIa e a P-selectina são abrigadas pelas MP plaquetárias ⁽¹⁰⁹⁾. Aproximadamente 70 a

90% de todas as MP no sangue são originadas das plaquetas. Elas expressam vários antígenos, incluindo glicoproteína (GP) IX (CD42A, GPIb (CD 42b) e GP IIb/IIIa (CD41/CD61), fator tecidual (FT; CD142) e P-selectina (CD62P). As MP plaquetárias podem ter um papel importante na coagulação e inflamação e conseqüentemente importância fisiopatológica em várias doenças ⁽¹⁰⁶⁾.

Estudos recentes mostraram que as MP endoteliais podem ser usadas como um novo marcador de disfunção endotelial, refletindo diretamente o estado de homeostase entre a ativação celular endotelial, proliferação e apoptose ^(21,23,106). Evidências sugerem que as MP endoteliais aumentam em várias condições patológicas relacionadas à lesão endotelial, tais como hipertensão arterial, dislipidemia, DM, tabagismo, DAC, púrpura trombocitopênica trombótica e insuficiência cardíaca ^(21,23,107). Elas podem ser identificadas pelo anticorpo CD 51 ⁽¹¹⁰⁾, bem como por outros marcadores típicos de células endoteliais maduras, como CD144, CD146 e CD31 ⁽¹¹⁻¹¹³⁾.

Alguns estudos mostram que as MP estão envolvidas na iniciação e amplificação da cascata de coagulação, na trombose e na propagação da inflamação, modulação do tônus vascular, angiogênese, na incorporação das células tronco e metástase de células tumorais devido a algumas moléculas abrigadas na sua superfície ou dentro do citoplasma ⁽²³⁾, sugerindo que as MP possam ser importantes vetores de informação biológica de uma célula para outra. Além disso, tem sido proposto que as MP possam contribuir para a comunicação intracelular de longa distância ⁽²¹⁾. A maioria destes processos está associada com alterações de parâmetros vasculares hemostáticos e de disfunção vascular, incluindo a atenuação da vasodilatação dependente do endotélio, alteração da resposta das células musculares lisas ao estímulo de vasoconstrição ou ambos ⁽²¹⁾ (Figura 1).

Figura 1 – Fatores que influenciam a formação das micropartículas

Figura Adaptado de Boulanger CM ⁽¹⁰⁷⁾

1.2.3 Proteína C Reativa altamente sensível

A proteína C reativa por metodologia de alta sensibilidade (PCRas) é um dos biomarcadores inflamatórios mais utilizados e consagrados para avaliação do risco cardiovascular. Esta pentraxina circulante possui importante papel na resposta imune sendo considerada biomarcador plasmático estável para inflamação sistêmica ⁽¹¹⁴⁾. É produzida predominantemente no fígado como parte da resposta da fase aguda, contudo, também é expressa nas células musculares lisas dentro das artérias com doença aterosclerótica e tem sido implicada em muitos aspectos da aterogênese e da vulnerabilidade da placa, incluindo a expressão de moléculas de adesão, indução do ON, alteração da função do complemento e inibição da fibrinólise intrínseca ⁽¹¹⁵⁾. Tem efeito direto na promoção do processo aterosclerótico via ativação das células endoteliais e musculares lisas e aumento do estresse oxidativo ⁽¹¹⁵⁾. Verma *et al* ⁽¹¹⁶⁾ demonstraram que a PCR-as também exerce um efeito deletério na

função das CEP, uma conseqüência que pode incluir o prejuízo da reparação e neovascularização de tecidos isquêmicos.

A utilidade da PCRas como biomarcador para a DCV foi reconhecida em 1997, a partir de dois grandes estudos: *European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Study* (ECAT) ⁽¹¹⁷⁾ e *Physicians Health Study* ⁽¹¹⁸⁾. No estudo ECAT houve aumento de duas vezes nas taxas de eventos coronarianos entre os pacientes no mais alto quintil das PCRas, comparados com os pacientes nos primeiros quatro quintis ⁽¹¹⁷⁾. No *Physicians Health Study* uma grande corte prospectiva de aproximadamente 22.000 homens, inicialmente saudáveis, verificou-se clara relação entre os níveis basais de PCRas no quartil superior e a incidência de infarto do miocárdio (IM) e acidente vascular cerebral (AVC) ⁽¹¹⁸⁾. Subseqüentemente, muitos outros estudos confirmaram o valor preditivo da PCRas para eventos vasculares em uma variedade de populações, mesmo entre idosos ⁽¹¹⁹⁻¹²²⁾

Vários estudos observacionais como *Framingham Heart Study* sugeriram a importância da PCRas como um preditor independente de risco vascular em conjunto com tradicionais fatores utilizados na avaliação de risco ^(123,124). Pelo exposto, a dosagem da PCR pode ser útil na prevenção primária e secundária de eventos cardiovasculares ^(125,126). Nos pacientes de risco baixo ou intermediário pelo escore de risco de *Framingham*, a sua utilização torna-se importante na prevenção primária da DAC, já que muitos destes pacientes não seriam elegíveis para o tratamento hipolipemiante. Existe uma clara associação entre aterotrombose e inflamação e os níveis de LDL-c propostos em diretrizes atuais na prevenção primária da doença coronariana que poderão ser modificados na presença de inflamação ⁽¹²⁷⁾.

Apesar de bem estabelecido como biomarcador de risco coronariano poucos estudos avaliaram a PCRas em pacientes infectados pelo HIV ^(128,129). Lau B *et al* ⁽¹²⁸⁾ demonstraram que os níveis de PCR aumentam com o passar do tempo nos pacientes infectados pelo HIV, e naqueles indivíduos que progridem para aids este aumento é ainda mais expressivo.

2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Considerando-se que a TARV modificou a morbidade e mortalidade dos pacientes infectados pelo HIV e a aids adquiriu um caráter de cronicidade, tem-se observado deste então, diversos efeitos colaterais metabólicos, principalmente relacionados aos lípidos^(3,4). Está consubstanciado na literatura que estas alterações metabólicas decorrentes da TARV contribuem para a elevação do risco de DCV, entretanto pouco se tem descrito sobre o papel da infecção pelo HIV *per se* como doença inflamatória e predisponente para DCV neste contexto. Pretende-se, portanto neste estudo avaliar em pacientes infectados pelo HIV e ainda sem uso de terapia antirretroviral a possível participação do HIV na aterogênese. Com esta finalidade, serão utilizados a medida do IMT-c e da DMF e biomarcadores novos e tradicionais: CEP, MP e PCRas, perfil lipídico, apo B e glicemia.

O papel de fatores de risco tradicionais com o colesterol total e LDL-c na fisiopatologia da DAC está fortemente descrito na literatura. Por outro lado, a utilidade de biomarcadores inflamatórios na estratificação de risco ainda não foi completamente elucidada, principalmente na população infectada pelo HIV como a quantificação das CEP, MP e PCRas.

Pela relevância do endotélio vascular na modulação da doença cardiovascular e a visão moderna de papel crucial da inflamação na aterosclerose e suas complicações, a proposta deste estudo é a de se testar o elo entre HIV e desbalanço no *turnover* endotelial, decorrentes da inflamação sistêmica crônica e possível presença de aterosclerose destes pacientes sem prévia exposição à TARV e comparar com um grupo controle não infectado pelo HIV. Além disso, também serão avaliados como marcadores de risco tradicionais o perfil lipídico, apo B, glicemia, IMT-c pela ultrassonografia da artéria carótida e a função endotelial através da DMF

3. OBJETIVOS

Objetivo Principal:

- Avaliar o papel do HIV nas células endoteliais progenitoras e micropartículas (endoteliais e plaquetárias) em pacientes infectados pelo HIV e sem prévia exposição à TARV antirretroviral e comparar com um grupo controle;

Objetivos Secundários:

Avaliar e comparar entre os grupos:

- Perfil lipídico, apolipoproteína B, glicemia e proteína C reativa altamente sensível;
- A presença de aterosclerose subclínica por meio da medida de espessura média intimal carotídea;
- A função endotelial por meio da dilatação mediada pelo fluxo;

4. CASUÍSTA E MÉTODOS

Trata-se de um estudo tipo caso-controle, onde foram recrutados sujeitos entre outubro 2008 à dezembro 2009 que concordaram em participar voluntariamente desta pesquisa. Os pacientes foram selecionados no Ambulatório de Infectologia da Disciplina de Infectologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) e os voluntários foram selecionados da população em geral (comunidade) a partir de um convite do pesquisador. Foram incluídos em ambos os grupos pacientes com idade entre 20 anos a 60 anos, sem restrição de gênero, sendo excluídas pessoas com antecedente de doença cardíaca prévia (IAM ou angina), DM, uso de hipolipemiantes e mulheres grávidas. Para os pacientes infectados pelo HIV eram critérios de exclusão: uso de TARV (prévio ou atual) e a presença de qualquer infecção em período inferior a seis meses da data da entrevista

4.1 Aspectos éticos

Esta pesquisa foi previamente aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (protocolo CEP 0874/08). O paciente ou voluntário que era convidado, inicialmente lia e assinava o TCLE (Anexo 1 e 2). O questionário utilizado para coleta de dados foi aplicado em um ambiente que proporcionava privacidade ao paciente ou voluntário, sendo garantido total sigilo sobre as informações fornecidas (Anexo 3).

4.2 Seleção de pacientes:

Foi aplicado um questionário previamente estabelecido (anexo 3), composto por partes distintas: dados demográficos, clínicos e antropométricos, presença de fatores de risco relacionados com DAC e uso de medicações concomitantes.

As análises realizadas foram: CT e frações (LDL-c e HDL-c), triglicérides, apo B, PCRas e glicemia, tendo sido observadas as regras do IV

Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias da Sociedade Brasileira de Cardiologia que são: não ingestão de bebida alcoólica nas 72 horas que antecediam a coleta e jejum de pelo menos 12 horas ⁽¹²⁶⁾. Os resultados de carga viral e de linfócitos T CD4+ foram obtidos dos prontuários, desde que a data da última coleta destes exames fosse de até seis meses anteriores ao preenchimento do questionário. Foi colhida sorologia para HIV dos indivíduos do grupo controle.

As dosagens dos exames de sangue foram realizadas nos seguintes laboratórios da UNIFESP/HSP: Retrovirologia (contagem de linfócitos T CD4+ e RNA-HIV), Central (perfil lipídico, glicemia e proteína C reativa) e a apo B no Laboratório Clínico da AFIP (Associação Fundo de Incentivo à Psicofarmacologia) do Departamento de Psicobiologia da Universidade Federal de São Paulo.

A contagem das CEP e MP por citometria de fluxo foi realizada por um único profissional treinado no laboratório de Retrovirologia da Disciplina de Infectologia e posteriormente no laboratório de Biologia Molecular e Experimental da Disciplina de Cardiologia, ambos da UNIFESP.

4.3 Avaliação bioquímica

Os níveis plasmáticos do CT, HDL-c, triglicérides, glicose e PCRas foram realizados por metodologia automatizada no equipamento Olympus AU 640 ® da empresa Beckman Coulter. O cálculo do LDL-c foi realizado através da fórmula de Friedwald quando triglicérides menor 400 mg/dL. A apo B também foi dosada por metodologia automatizada no equipamento Image da empresa Beckman Coulter ®. No quadro 1 estão descritos os valores de referência e a metodologia utilizada para cada um dos seguintes exames:

Quadro 1 - Valores de referência e a metodologia utilizada para os exames bioquímicos.

Exame	Valor de Referência	Metodologia
Apo B	Sexo masculino: 52 a 109 mg/dL Sexo feminino: 49 a 103 mg/dL	Nefelometria automatizada
Glicose	70 a 99 mg/dL	Método enzimático do tipo hexokinase
PCR alta sensibilidade	Risco cardíaco: Baixo < 1,1 mg/dL Intermediário: 1,1 a 3,0 mg/dL Alto > 3,0 mg/dL	Método imunoturbidimétrico
Colesterol total	Desejável: inferior a 200 mg/dL Limítrofe: 200 a 239 mg/dL Elevado > 239 mg/dL	Método de hidrólise enzimática e oxidação
LDL-c	Ótimo < 100 mg/dL Desejável: 100 a 129 mg/dL Limítrofe: 130 a 159 mg/dL Elevado 160 a 189 mg/dL Muito elevado > 189 mg/dL	Fórmula de Friedewald: $LDL = CT - HDL-c - VLDL (TG/5)$ Quando TG < 400 mg/dL
HDL-c	Baixo inferior a 40 mg/dL Alto superior a 60 mg/dL	Métodos de imunoinibição direta.
Triglicérides	Até 200 mg/dL	Método enzimático (Glicerol Fostato Oxidase).

Fonte: III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemia e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia⁽¹³⁰⁾

Os valores de referência para o diagnóstico da dislipidemia em adultos com idade superior a 20 anos encontram-se no anexo 4.

4.4 Avaliação Física

Para a avaliação física foram utilizados os seguintes métodos:

4.4.1 Medida da Pressão Arterial

Utilizou-se como medida da pressão arterial o método indireto, com técnica auscultatória, com esfigmomanômetro aneróide ou de coluna de mercúrio e estetoscópio. A técnica de medição utilizada para esta medida consta do anexo 5.

4.4.1.2 Classificação da Pressão Arterial

A pressão arterial foi classificada conforme a VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial da Sociedade Brasileira de Cardiologia 2010⁽¹³¹⁾. Quadro 2

Quadro 2 - Classificação de Pressão Arterial

Classificação	Pressão Arterial Sistólica (mmHg)	Pressão Arterial Diastólica (mmHg)
Ótima	< 120	< 80
Normal	< 130	< 85
Limítrofe	130-139	85-89
Hipertensão		
Estágio 1 (leve)	140-159	90-99
Estágio 2 (moderada)	160-179	100-109
Estágio 3 (grave)	≥ 180	≥ 110
Sistólica Isolada	≥ 140	< 90

4.4.2 Avaliação Antropométrica

Para a avaliação antropométrica foram realizadas as seguintes medidas: peso (P) e estatura (E); circunferência da cintura e do quadril. Todas as técnicas utilizadas para a realização destas medidas antropométricas estão descritas no anexo 6.

Com a utilização destas medidas, foi calculado o índice de massa corpórea (IMC) e a razão circunferência abdominal/quadril (RCQ).

4.4.3 Índice de Massa Corpórea (IMC)

O IMC é obtido a partir da fórmula: $IMC (kg/m^2) = \text{Peso (kg)} / \text{Estatura}^2 (m)$. O cálculo do peso e estatura foi calculado conforme consta do anexo 6. Após a obtenção dos resultados os pacientes foram classificados de acordo com os valores para indivíduos < 60 anos (Quadro 3).

Quadro 3 - Classificação do índice de massa corpórea para indivíduos menores de 60 anos

Estado Nutricional	IMC
Desnutrição G. III (grave)	≤ 16
Desnutrição G. II (moderada)	16 - 16,9
Desnutrição G. I (leve)	17 - 18,49
Eutrófico	18,5 - 24,9
Pré-Obeso	25 - 29,9
Obesidade G.I	30 - 34,9
Obesidade G.II	35 - 39,9
Obesidade G.III	$\geq 40,0$

Fonte: Organização Mundial de Saúde (OMS) ⁽¹³²⁾

4.4.4 Razão Cintura Quadril (RCQ)

A circunferência da cintura é determinada na área mais estreita, acima do umbigo, e a do quadril, sobre a protusão máxima dos glúteos conforme anexo 7. A classificação é de acordo com o sexo (quadro 4). Os valores superiores são considerados fatores de risco para DCV, apresentando correlação positiva com a mortalidade cardiovascular. ⁽¹²⁹⁾

Quadro 4 - Classificação da Razão Cintura/Quadril (RCQ)

	Valores Normais	Valores de Risco
Sexo Masculino	< 0,9	≥ 0,9
Sexo Feminino	< 0,85	≥ 0,85

Fonte: Halpern A ⁽¹³⁴⁾**4.5 Avaliação do Espessamento Médio Intimal (IMT-c)**

A medida do IMT-c é um exame não invasivo, realizado por ultrassonografia. Ele varia com a idade, sendo que os valores de referência da normalidade em indivíduos abaixo dos 30 anos encontram-se entre 0,39 a 0,48 mm, até 38 anos entre 0,66 mm e 0,70mm e acima dos 50 anos entre 0,46 a 0,62mm ^(58,135) .

Para a realização deste exame foi utilizado o aparelho de ultrassonografia/ecocardiografia modelo Image Point HX da *Hewlett Packard*, acoplado a um transdutor linear de alta resolução com frequência de até 11MHZ. Todos os exames foram gravados em fitas de vídeo (VHS) para posterior análise dos parâmetros. Foram observadas as recomendações do *Intima-Media Thickness Consensus, 2004* ⁽¹³⁶⁾. A aquisição da imagem foi realizada no plano longitudinal no modo bidimensional, por um observador experiente. O paciente foi colocado na posição supina, sendo que o local da avaliação estava a 1 cm abaixo do bulbo carotídeo com boa visualização da parede arterial para reprodutibilidade das imagens. A medida do IMT-c foi realizada na parede anterior ou posterior da artéria, na distância entre duas linhas ecogênicas representadas pelas interfaces lúmen-íntima e média-adventícia da parede arterial da artéria carótida comum direita e esquerda.

4.6 Avaliação da Função Endotelial

A função endotelial foi realizada por meio da medida da DMF da artéria braquial em vinte indivíduos de cada grupo. Esta avaliação foi realizada posteriormente ao início do estudo não sendo possível examinar todos os sujeitos. Foi utilizado aparelho de ultrassonografia/ecocardiografia modelo Image Point HX *Hewlett Packard*, acoplado a um transdutor linear com frequência de até 11 MHz com monitorização simultânea do eletrocardiograma (ECG). Todos os exames foram gravados em fitas de vídeo (VHS) para posterior análise dos parâmetros. Foi usado esfignomanômetro para compressão controlada da artéria braquial até o nível desejado.

Para a realização deste exame foram adotados os seguintes procedimentos: jejum de 4 à 6 horas, sem ingestão de cafeína e seus derivados, vitamina C ou fumo nas seis horas que antecediam a realização dos exames. O uso de vasodilatadores no dia do exame era proibido.

O paciente era colocado na posição supina durante 10 minutos e o exame era iniciado. A aquisição das imagens foi obtida de acordo com as recomendações da Força Tarefa Internacional dos estudos de reatividade da artéria braquial ⁽¹³⁷⁾. O sujeito foi mantido em decúbito dorsal horizontal com o braço direito confortavelmente posicionado. Foram obtidas imagens da artéria braquial acima da fossa antecubital no plano longitudinal com o transdutor posicionado no braço direito logo acima da prega antecubital. A distância entre a porção distal do terceiro dedo da mão direita e o transdutor foi aferida com o objetivo de uniformizar futuras avaliações. Nesta região da artéria braquial, com a visualização da sua borda anterior e posterior da camada íntima, foram realizadas as medidas do diâmetro diastólico da artéria, inicialmente em condições basais (Basal 1).

A medida da reatividade vascular endotélio-dependente era realizada com o manguito do esfignomanômetro posicionado no seguimento proximal do antebraço direito do paciente, abaixo do local de avaliação da artéria braquial pelo ultrassom. A seguir, insuflava-se o manguito até 50 mm Hg acima da pressão arterial sistólica durante cinco minutos. As imagens da artéria braquial foram gravadas desde 30 segundos até dois minutos imediatamente após a liberação do manguito. A medida do diâmetro diastólico da artéria braquial foi

realizada no primeiro minuto, após a desinsuflação do manguito de pressão arterial (fase de hiperemia reativa).

A reatividade vascular endotélio-dependente era medida através do:

- Diâmetro diastólico máximo da artéria braquial em repouso (basal1), obtido no pico da onda R do ECG (DDB1), expresso em milímetros.
- Diâmetro diastólico máximo da artéria braquial na fase de hiperemia reativa (realizada no primeiro minuto, após a liberação do manguito), obtido no pico da onda R do ECG (DDHR), expresso em milímetros.
- Variação absoluta entre o DDHR e DDB1.
- Variação relativa entre DDHR e DDB1 expressa pela fórmula:
 $(DDHR - DDB1 / DDB1) \times 100(\%)$

4.7 Quantificação por Citometria de Fluxo

4.7.1 Células Endoteliais Progenitoras

Foram colhidos aproximadamente 20 mL de sangue periférico dos pacientes em tubo com EDTA, sendo acrescido Ficoll-Hypaque e centrifugado a 2000 rpm, 20-22°C durante 20 minutos, havendo separação de células mononucleares por gradiente de concentração. A seguir, as células obtidas foram lavadas em solução isotônica (PBS). A viabilidade foi analisada em hemocítmetro, após coloração de 10 uL das células com 90 uL de Azul de Tripán 0,4% por 5 minutos; em seguida as amostras sofreram nova centrifugação e foram imunomarcadas por 15 minutos à temperatura ambiente com os seguintes anticorpos: CD34 conjugado com isotiocianato de fluoresceína – FITC (Becton Dickinson), KDR conjugado com ficoeritrina - PE (R&D Systems) e CD133 conjugado com alofocianina – APC (Miltenyi). Como controles foram analisadas células marcadas com os isotipos IgG1 FITC (Becton Dickinson), IgG1 PE (R & D Systems) e IgG1 APC (Miltenyi). Imediatamente após este processo, foi realizada a leitura em Citômetro de Fluxo (FACSCalibur – Becton Dickinson) com análise feita pelo *software Cell*

Quest Pro. A contagem das CEP é expressa em porcentagem de células progenitoras do total de células da região de linfócitos marcado pela citometria de fluxo.

4.7.2 Micropartículas Endoteliais e Plaquetárias

Após a coleta de 10 mL de sangue periférico dos pacientes em tubos contendo citrato, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm, 20-22°C por 10 minutos para a obtenção do plasma rico em plaquetas (PRP). O PRP foi centrifugado a 13000 rpm, 20-22°C durante 6 minutos, para a obtenção do plasma pobre em plaquetas (PPP). A seguir, 50 uL do PPP é duplamente marcado por 20 minutos, temperatura ambiente com o anti-CD31 conjugado com PE (Beckton Dickinson) e anti-CD42 conjugado com FITC (Beckton Dickinson). O anticorpo anti-CD31 está presente tanto em MP endoteliais como plaquetárias, e o CD42 apenas em MP plaquetárias, permitindo, assim a discriminação entre elas ⁽¹⁰⁶⁾. Além disso, uma segunda população de MP endoteliais foi quantificada utilizando o anti-CD51 conjugado com FITC (Beckton Dickinson), não sendo necessária a utilização de outros anticorpos visto que o CD51 está presente apenas em MP endoteliais. Como controles foram utilizados os isotipos IgG1 FITC (Beckton Dickinson) e IgG1 PE (Beckton Dickinson). As MP foram quantificadas por microlitro de PPP injetado no citômetro. A figura 2 mostra uma foto de citometria com a identificação das MP.

Foram utilizados tubos TruCOUNT (Becton Dickinson) que contém uma quantidade conhecida de esferas (*beads*), com o intuito de quantificar as MP por microlitro de PPP injetado no citômetro, de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Beads contadas pelo citômetro} \times \frac{\text{"x" uL de PPP}}{\text{Beads totais contidas em cada tubo}} = \text{"y" uL de PPP injetado no citômetro}$$

Após a obtenção do valor aproximado de microlitros de PPP injetado no equipamento, é feito o seguinte cálculo:

$$\frac{\text{Micropartículas contadas pelo citômetro} = \text{"z" micropartículas/ uL de PPP injetado no citômetro}}{\text{"y" uL de PPP injetado no citômetro}}$$

Segue abaixo um exemplo dos cálculos utilizados:

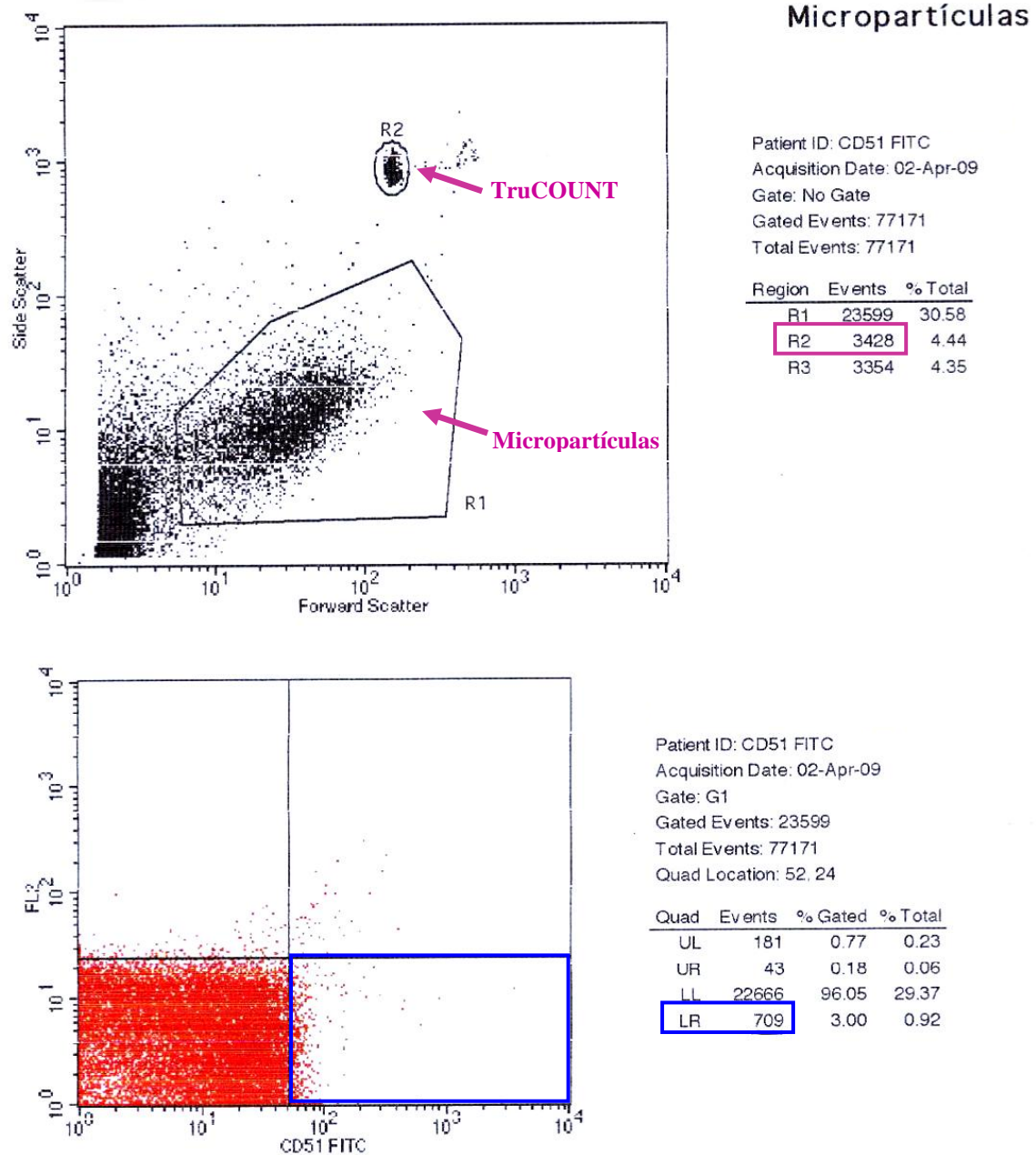


Figura 2. Citometria de Fluxo de Micropartículas Endoteliais com a utilização de tubos contendo um número conhecido de esferas (TruCOUNT). A análise foi feita no plasma pobre em plaquetas (PPP). UL: Upper Left; UR: Upper Right; LL: Lower Left; LR: Lower Right (Micropartículas CD51+).

- Beads contadas pelo citômetro: 3428 (Região R2);
- Total de plasma pobre em plaquetas (PPP) utilizado: 50 uL;
- Beads totais contidas em cada tubo: 47685 (informação da embalagem dos tubos TruCOUNT que varia de lote para lote);

$$\frac{3428 \times 50 \text{ uL}}{47685} \sim 3,59 \text{ uL de PPP aspirado pelo citômetro}$$

- Micropartículas contadas pelo citômetro no quadrante *Lower Right (LR)*: 709;
- Quantidade de PPP aspirado pelo citômetro: ~ 3,59 uL.

$$\frac{709}{3,59} \sim 197,5 \text{ micropartículas endoteliais CD51+ por microlitro de PPP injetado no citômetro.}$$

4.8 Análise Estatística

Os dados estão apresentados como média ou mediana e desvio padrão (DP), a menos que especificado. Diferenças entre as médias dos grupos foram avaliadas através *do teste t de Student* para comparações simples. As variáveis foram testadas por testes não paramétricos (*Mann-Whitney*) quando necessário. Variáveis categóricas foram apresentadas por percentuais de suas frequências e comparadas através do teste de *Pearson* (Qui quadrado). Todos os testes foram analisados para uma significância de $p < 0.05$. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa *SPSS* (Chicago, IL, USA) versão 16.

5. RESULTADOS

5.1 Características demográficas e clínicas

Nesta pesquisa foram incluídos 68 indivíduos (35 HIV+ e 33 controles), com mediana de idade de 33 anos (variação de 21 a 48 anos), sendo 80% do sexo masculino e de raça branca. O grupo controle foi pareado por sexo e idade com o grupo caso. Conforme demonstrado na tabela 2, não foram encontradas diferenças significantes quanto a pressão arterial, dados antropométricos, história familiar de doença coronariana prematura e tabagismo entre os grupos.

Tabela 2 – Dados Demográficos da população em estudo

Dado	HIV+ (n= 35)	Controle (n = 33)	p
Idade (mediana) anos	34 (21-48)	31 (22-45)	0,55
Sexo masculino, n (%)	29 (82,8%)	26 (78,7%)	0,99
IMC, kg/m ²	25,5 (3)	25,1 (4)	0,66
PAS, mm Hg	118 (0,94)	117 (1,07)	0,77
PAD, mm Hg	77 (0,81)	78 (1,04)	0,32
Hipertensos	4 (11,4%)	2 (6,06%)	0,78
RCQ	0,88 (0,01)	0,88 (0,01)	0,92
Tabagismo, n (%)	7 (21,2%)	4 (11,4)	0,27
História familiar de DC prematura, n (%)	7 (21,2%)	9 (25,2%)	0,66

Resultados em média (DP). Legenda: IMC (índice de massa corpórea, calculado como peso em kilogramas dividido pela altura ao quadrado); PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; RCQ: relação cintura/quadril, DC: doença coronariana: história familiar doença coronariana prematura.

5.2 Perfil imunológico dos pacientes infectados pelo HIV

No grupo de pacientes infectados pelo HIV, o tempo médio de duração da infecção foi de 3,8 anos (< 1 ano a 14 anos), a contagem média de linfócitos T CD4+ de 503 células/mm³ (269 a 1371 células/mm³) e da carga viral 20 515 cópias/mL (49 a 163 410 cópias/mL) ou 3,76 log (2,10 a 5,21 log). Importante ressaltar que todos os pacientes infectados pelo HIV nunca fizeram uso de TARV.

5.3 Perfil lipídico e de apolipoproteína B

Pacientes infectados pelo HIV apresentaram média de colesterol total e HDL-c mais baixos que o grupo controle conforme descrito na tabela 3

Tabela 3: Perfil lipídico entre os pacientes infectados pelo HIV e controles

<i>Parâmetro (mg/dL)</i>	<i>HIV+</i> <i>(n=35)</i>	<i>Controle</i> <i>(n= 33)</i>	<i>p</i>
CT	156 (32)	173 (38)	0,02
LDL-c	95 (12)	110 (27)	0,77
HDL-c	37 (12)	47 (12)	0,001
TG	109 (61)	102 (48)	0,56
Apo B	83 (24)	83 (20)	0,35

Resultados expressos por médias (DP). Legenda: CT: colesterol total, LDL-c: lipoproteína de baixa densidade, HDL-c: lipoproteína de alta densidade, TG: triglicérides, Apo B: apolipoproteína B.

5.4 Glicemia e proteína C reativa altamente sensível

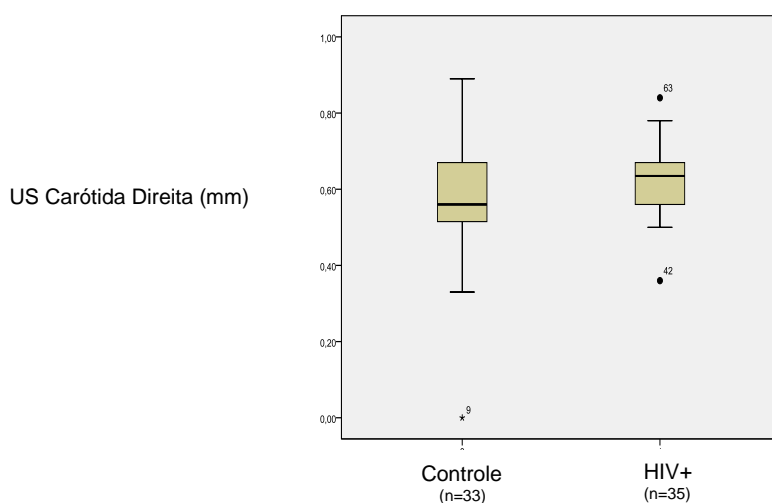
As médias (DP) das glicemias não diferiram para os grupos HIV e controle, sendo, respectivamente 91 mg/dL (14) mg/dL e 88 (7) mg/dL (p = 0,16).

As médias (DP) das PCRas também não diferiram sendo 1,64 mg/dL (3) e 1,18 mg/dL (2) no grupo caso e controle respectivamente (p = 0,15).

5.5 Espessamento médio intimal carotídeo

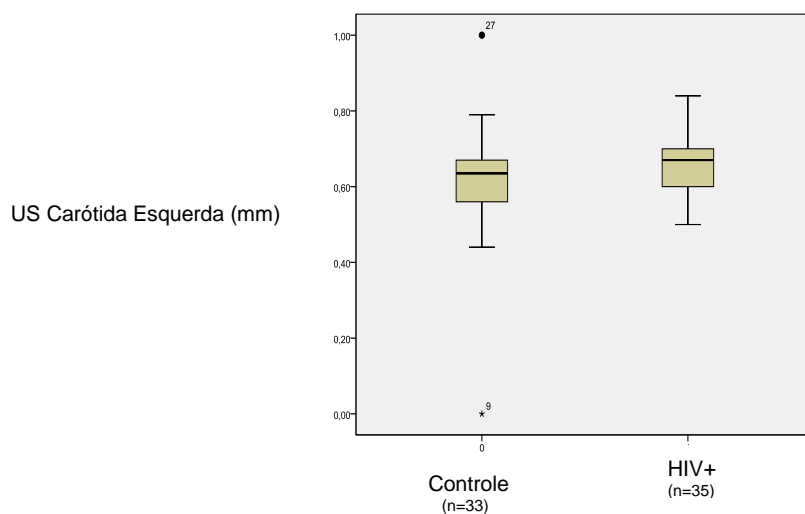
A medida do máximo IMT-c obtido para ambas as carótidas não diferiu, sendo 0,60mm e 0,58mm ($p = 0,77$) na carótida direita e 0,64mm e 0,62mm ($p = 0,82$) na carótida esquerda nos grupos caso e controle respectivamente conforme ilustrado pelas figuras 3 e 4.

Figura 3 – Espessamento médio intimal da carótida direita



Box-plot do máximo espessamento médio intimal da artéria carótida Direita para os grupos HIV e controle. Este parâmetro não diferiu entre os grupos ($p = 0,17$, teste t não pareado).

Figura 4 - Espessamento médio intimal da carótida esquerda

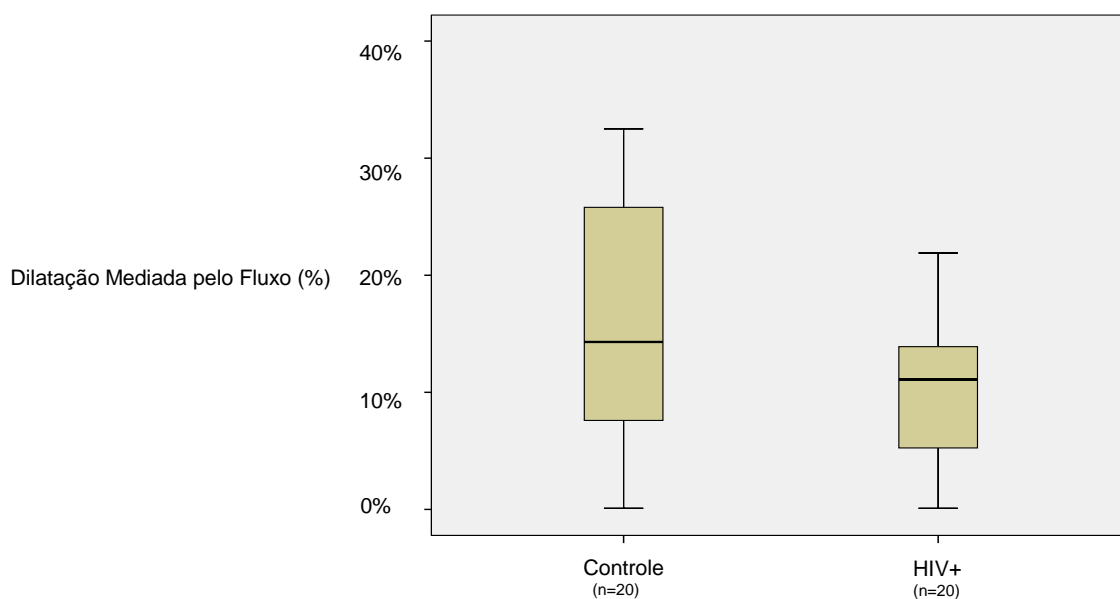


Box-plot do máximo espessamento médio intimal da artéria carótida Esquerda para os grupos HIV e controle. Este parâmetro não diferiu entre os grupos ($p = 0,25$, teste t não pareado).

5.6 Estudo da função endotelial

A medida da reatividade vascular pela DMF diferiu entre os grupos HIV e controle respectivamente: $9\% \pm 5\%$ e $16\% \pm 10$, $p= 0,03$. (Figura 5).

Figura 5 – Dilatação mediada pelo fluxo



Box-plot da dilatação mediada pelo fluxo nos grupos HIV+ e controle. ($p = 0,03$ - teste t não pareado).

5.7 Células Endoteliais Progenitoras e Micropartículas

5.7.1 Células Endoteliais Progenitoras

A contagem das CEP é expressa em porcentagem de células progenitoras do total de células da região de linfócitos marcado pela citometria de fluxo. O número médio (DP) das CEP foi menor nos pacientes infectados pelo HIV quando comparado aos controles para CD34+/KDR+ mas não para CD34+/CD133+ ou KDR+/CD133+ (Tabela 4).

5.7.2 Micropartículas

O número médio de MP endoteliais (CD51+) diferiu entre os grupos o mesmo não acontecendo com as MP plaquetárias (CD31+ e CD42+) (Tabela 4).

Tabela 4 – Caracterização e Quantificação das Células Endoteliais Progenitoras e Micropartículas entre o grupo HIV+ e controle.

<i>Marcador</i>	<i>HIV+</i> <i>(n=32)</i>	<i>Controles</i> <i>(n=30)</i>	<i>p</i>
CD34+/KDR (%)	0,02 (0.04)	0,09 (0.17)	0,04
CD34+/CD133+ (%)	0,01 (0.02)	0,01 (0.02)	0,25
KDR/CD133+ (%)	0,01 (0.02)	0,01 (0.03)	0,21
MP plaquetária (µL/PPP) (CD31+/CD42+)	24 992 (19 277)	26 642 (40 779)	0,83
MP endotelial (µL/PPP) (CD51+)	1963 (3901)	436 (889)	0,003

Resultados em média (DP), Teste *t*

6. DISCUSSÃO

A principal contribuição deste estudo foi a observação que entre pacientes infectados pelo HIV e sem prévia exposição à TARV, já existe um desbalanço entre a mobilização de CEP e MP derivadas do endotélio associada à disfunção endotelial. Estes achados podem contribuir para melhor compreensão da precocidade do desenvolvimento da DCV nestes pacientes, que pode ser agravada posteriormente pela hiperlipidemia secundária à TARV. De fato, a base moderna da fisiopatologia da aterosclerose e dos mecanismos de agressão dos fatores de risco tradicionais como hipertensão arterial, tabagismo ou diabetes tem, em comum, a disfunção endotelial. Os achados abrem interessantes perspectivas de investigação de mecanismos celulares envolvendo por um lado a infecção, inflamação e apoptose endotelial e de outro, a menor capacidade reparadora nestes pacientes, representada pela menor quantidade de CEP no plasma.

Após a introdução da TARV, a expectativa de vida nas pessoas que vivem com HIV/aids aumentou e esta doença adquiriu um caráter crônico ^(3.4). As causas de morte relacionadas à imunodepressão estão diminuindo, entretanto, a proporção de óbitos por causas não relacionadas à aids, incluindo por DCV está aumentando em parte, como consequência dos eventos adversos relacionados ao tratamento ⁽⁵⁾. Recentemente diversos estudos, inclusive epidemiológicos como o SMART estão discutindo a hipótese da influência do HIV *per se* no aumento do risco cardiovascular mesmo sem o uso ou com a interrupção da TARV ⁽¹³⁸⁾.

Nesta amostra, com os grupos pareados por sexo e idade, houve predomínio do sexo masculino (80%) e a mediana da idade de 33 anos. Em relação aos pacientes infectados pelo HIV, esta idade vai de encontro aos dados publicados pelo Ministério da Saúde que mostram um predomínio maior desta doença nesta faixa etária (78% dos casos entre adultos concentra-se na faixa etária entre 25 a 49 anos) ⁽²⁾. Quanto ao predomínio do sexo masculino isto também está de acordo com dados do Ministério da Saúde entre 1980 a junho 2009 quando foram identificados 356.427 casos de aids no sexo masculino e 188.396 no sexo feminino ⁽²⁾.

A mudança de paradigma sobre o estado nutricional de pacientes que vivem com HIV/aids, já suplantada na literatura é corroborada por vários trabalhos ⁽¹³⁹⁻¹⁴¹⁾. Nesta pesquisa foi encontrada uma prevalência igual de pacientes com IMC dentro da normalidade (54%) em ambos os grupos. Esta característica está de acordo com dados da literatura que mostram uma prevalência de pacientes com eutrofia de 65% ⁽¹⁴⁰⁾. Não foram observados pacientes desnutridos, diferentemente de dados da literatura (2,5% a 3,6%) ^(140,142). Observou-se em contrapartida, 27,7% de pré-obesidade no grupo infectado pelo HIV e 40% no grupo controle, sendo este o principal desvio nutricional deste estudo. Silva *et al* ⁽¹⁴²⁾ avaliaram 76 pacientes nesta mesma unidade ambulatorial e sem exposição à TARV e observaram 6,6% de obesidade havendo agora um aumento de prevalência. Estes dados estão bem acima dos achados de Hodgson *et al* ⁽¹⁴³⁾ que descreveram 9% obesidade em 162 pacientes (83% em TARV). A presença de obesidade nesta população aumenta o risco de algumas doenças crônicas como diabetes *mellitus* tipo 2 e DCV ⁽¹³²⁾. Estes achados, somados ao aumento de sobrevivência dos pacientes com HIV/aids decorrentes do uso de TARV, apontam para uma nova característica nutricional desta população, indicando que as mudanças de estilo de vida devem ser orientadas desde o início do acompanhamento destes pacientes.

A avaliação da obesidade abdominal através da RCQ encontrava-se normal entre os homens (0,89) e mulheres (0,82). Estes achados são semelhantes ao de Silva *et al* ⁽¹⁴²⁾ que descreveram a RCQ normal em mais de 50% da sua amostra em pacientes sem uso de TARV. Os dados desta pesquisa diferem daqueles encontrados por Jaime *et al* ⁽¹⁴⁰⁾ aonde a presença de obesidade abdominal apresentou forte associação com o sexo, sendo que nas mulheres a sua prevalência foi bastante superior em relação aos homens. A RCQ normal nesta pesquisa pode ser justificada pelo fato do grupo não estar exposto a TARV, ser relativamente jovem e não apresentar lipodistrofia.

No grupo de pacientes infectados pelo HIV observou-se um tempo médio de infecção bastante variável (menor que um ano a mais que 14 anos), mostrando que alguns pacientes superam os dados descritos pela literatura de início de TARV dentro de 10 anos do diagnóstico ⁽¹⁴⁴⁾. A alta média da contagem de linfócitos T CD4+ (> 500 células/mm³) e a baixa média de carga

viral são representativos e justificam a não introdução da TARV segundo as recomendações atuais do Ministério da Saúde ⁽¹⁴⁵⁾.

Os pacientes infectados pelo HIV apresentam vários fatores de risco tradicionais para o desenvolvimento da DCV e o tabagismo é o mais comum (47 a 71%) sendo mais elevado que na população em geral (16%) ^(146,147). Ao lado da história familiar de DAC prematura, o tabagismo é o preditor mais forte de eventos cardiovasculares ^(147,148). Em dois estudos realizados na cidade de São Paulo a prevalência de tabagismo (30,3% e 39,1%) foi superior a encontrada nesta pesquisa (21,2%) ^(142,149). Acredita-se que estes pacientes estejam sendo orientados quanto a mudanças de hábito de vida como medida de prevenção de DCV, já que neste ambulatório existe um programa de educação médica continuada para os residentes.

Quanto à associação mais provável da história familiar de DAC prematura é aquela mediada não apenas através de fatores genéticos, mas também pelo compartilhamento do mesmo nível sócio-econômico e por fatores ambientais que alteram o estilo de vida como tabagismo, dieta, IMC, atividade física bem como o uso do sistema de saúde na prevenção primária. Na amostra estudada, 21,2% dos pacientes apresentavam história familiar de DAC prematura, valor inferior ao encontrado por Silva *et al* ⁽¹⁴²⁾, 39,9% mas semelhantes aos controles (25%).

Em relação à hipertensão arterial, 94,1% dos pacientes infectados pelo HIV apresentaram níveis pressóricos dentro da normalidade (menor que 120 x 80 mmHg) ⁽¹²⁶⁾, o que difere de trabalhos da literatura ⁽¹⁵⁰⁾. A prevalência de hipertensão arterial nesta população pode variar de 12% a 20% entre os indivíduos com idade inferior a 40 anos e de 35% a 41% naqueles com idade superior 40 anos. Acredita-se que estes níveis pressóricos sejam reflexos da idade jovem desta casuística (33 anos), peso normal (54%) e não exposição à TARV. Espera-se que os níveis pressóricos se elevem com a maior expectativa de vida dos pacientes infectados pelo HIV após o uso da TARV e com o desenvolvimento das alterações metabólicas à longo prazo ^(148,150).

Alterações nos níveis de lípidos plasmáticos que favorecem a aterogênese têm sido descritos nos pacientes infectados pelo HIV antes da introdução da TARV. Grunfeld *et al* ⁽¹⁵¹⁾ demonstraram que pacientes com aids apresentavam altos níveis de triglicérides e ácidos graxos livres enquanto que

portadores assintomáticos do HIV tinham diminuição da concentração de CT e HDL-c. Estes achados também foram encontrados no estudo de Baker *et al* ⁽¹⁵²⁾ que avaliou 27 pacientes infectados pelo HIV e sem prévia exposição à TARV com 29 controles saudáveis. Os níveis de CT e HDL-c foram respectivamente no grupo caso e controle 168 mg/dL e 191 mg/dL e 34 mg/dL e 47 mg/dL ⁽¹⁵²⁾. Nesta pesquisa os níveis de lípidos foram semelhantes ao da literatura, com menores níveis de CT e HDL-c no grupo infectado pelo HIV quando comparado ao controle (tabela 3). Em nosso estudo 60% dos pacientes infectados pelo HIV apresentaram níveis de HDL-c menores que 40 mg/dL e 8,6% do CT maior ou igual a 200mg/dL, de acordo com as recomendações da Sociedade Brasileira de Cardiologia ⁽¹³⁰⁾. Comparando-se estes dados ao da população brasileira maior de 18 anos e não infectada pelo HIV, encontramos uma baixa incidência de CT maior ou igual a 200 mg/dL (8,6% x 40%) ⁽¹⁵³⁾. A literatura mostra que as anormalidades lipídicas tornam-se mais evidentes entre os pacientes infectados pelo HIV após a introdução da TARV ^(154,155). Os menores níveis de HDL-c na população infectada pelo HIV podem ser justificados pela inflamação crônica decorrente da presença do vírus e isto é corroborado por diversos estudos que mostram significativo incremento do HDL-c após o início da TARV nestes pacientes ^(12,142,154,155). Apesar das diferenças nos níveis de CT e HDL-c entre grupos, não foram encontradas diferenças nos valores da apo B (83 mg/dL em média para ambos).

A prevalência de glicemia de jejum alterada entre os pacientes infectados pelo HIV varia de 3 a 5% e podendo aumentar até 47% naqueles que utilizam IP comparado a 5% na população em geral ^(91,156). Destes pacientes, 3% a 14% tem evidência clínica de DM tipo 2 ⁽¹⁵⁶⁾. Neste estudo, observou-se 14% de pacientes com glicemia de jejum alterada bem acima do descrito na literatura, provavelmente pela alta prevalência de pré-obesos, já que estes pacientes ainda não utilizavam TARV. Foi encontrado apenas um caso de DM nesta amostra, ao acaso, já que este era um critério de exclusão. O paciente teve a sua glicemia repetida posteriormente e o diagnóstico confirmado (157 mg/dL e 133 mg/dL).

A utilização da PCRs é importante na prevenção primária de DCV de acordo com resultados do estudo Jupiter ⁽¹⁵⁷⁾, que realizou controle de metas de LDL-c e deste biomarcador na prevenção de eventos cardiovasculares,

obtendo bons resultados. A utilização da PCRas parece vantajosa, permitindo uma estratificação de risco, custo efetiva, uma vez que os métodos de imagens ainda são alternativas caras e de pouco acesso. Nesta pesquisa a média da PCRas foi 1,64 mg/dL e 1,18 mg/dL no grupo caso e controle respectivamente, valores inferiores aos encontrados por Baker *et al*⁽¹⁵²⁾ 1,94 mg/dL e 1,46 mg/dL, que também avaliaram pacientes infectados pelo HIV sem exposição à TARV. Triant *et al*⁽⁹⁾ demonstraram em um estudo retrospectivo que níveis elevados de PCRas e a infecção pelo HIV estão cada um associados com um aumento de duas vezes no risco de IAM. A presença de altos níveis de PCRas e da infecção pelo HIV elevou a chance de IAM em mais de quatro vezes quando comparado a pacientes sem nenhuma destas características. Nesta casuística, os níveis de PCRas > 3,0 mg/dL foram observados em 26% e 21% dos pacientes do grupo caso e controle respectivamente (alto risco para DCV).

Nesta pesquisa não foi observada diferença no IMT-c entre os grupos apesar de alguns trabalhos mostrarem o oposto. Uma das maiores limitações do IMT-c é a ausência de uma metodologia uniforme, pois alguns estudos avaliam a carótida comum e outros a região da sua bifurcação⁽¹⁸⁾. Oliviero *et al*⁽¹⁵⁸⁾ avaliaram 38 pacientes infectados pelo HIV sem prévia exposição à TARV e compararam com 41 controles HIV negativos pareados por fator de risco metabólico. O IMT-c foi mais alto nos pacientes infectados pelo HIV ($0.85 \pm 0.2\text{mm}$) quando comparado aos controles ($0.63 \pm 0.1\text{ mm}$, $p < 0.001$)⁽¹⁵⁸⁾. Bongiovanni *et al*⁽⁵⁷⁾ estudaram três grupos de pacientes com idade entre 30 a 50 anos em busca de possíveis fatores preditivos para o espessamento da carótida e/ou femoral (IMT-c > 1 mm em pelo menos uma área)⁽⁵⁷⁾. Fatores independentes para o espessamento médio intimal da carótida e/ou femoral foram maior idade (OR: 2.81, $P < 0.01$, para cada cinco anos adicionais), triglicérides > 150 mg/dL (OR: 2.66, $P < 0.001$), glicemia >110 mg/dL (OR: 5.24, $P < 0.04$), homocisteinemia elevada (OR: 2.75, $P < 0.02$) e alto IMC (OR: 1.10, $P < 0.05$ para cada unidade adicional); as mulheres apresentavam menor risco (OR: 0.38, $P < 0.01$ versus homens)⁽⁵⁷⁾. O uso de TARV não esteve associado com o IMT-c (OR: 0.64)⁽⁵⁷⁾. Maggi *et al*⁽¹⁵⁹⁾ avaliaram 172 pacientes sem prévia exposição à TARV e o IMT $\geq 0,9\text{ mm}$ foi considerado achado patológico, ocorrendo em 20,9% dos casos⁽¹⁵⁹⁾. No estudo de Hsue *et al*⁽⁷⁾ foram avaliados 494 indivíduos, com média de idade de 48 anos, divididos em

quatro grupos: pacientes infectados pelo HIV e controladores de elite (carga viral < 75 cópias na ausência de tratamento), HIV positivo com carga viral detectável na ausência de tratamento, HIV positivo em uso de TARV com carga viral < 75 cópias/mL e pacientes infectados pelo HIV em uso de TARV e não respondedores (carga viral detectável) comparado com um grupo controle pareado por sexo e idade ⁽⁷⁾. Mesmo os pacientes controladores de elite com baixa carga viral e com níveis elevados de linfócitos T CD4+, apresentaram a maior média do IMT-c quando comparado aos controles HIV negativos (0,91 vs 0,72 mm, $p < 0,001$) ⁽⁷⁾. Todos os outros grupos também tinham IMT-c maiores que os voluntários sadios. De acordo com os dados da literatura, os pacientes infectados pelo HIV apresentam IMT-c superior quando comparado a um grupo controle, sendo mais comum, entretanto, em pacientes mais velhos e expostos a TARV, o que difere desta pesquisa.

Apesar de termos avaliados 20 pacientes de cada grupo pudemos observar que os pacientes infectados pelo HIV apresentaram DMF menor quando comparada ao grupo controle. Estes dados são corroborados por diversos trabalhos que mostram uma DMF em pacientes infectados pelo HIV variando de 5,1% a 8,8% ⁽¹⁵⁸⁻¹⁶³⁾. A literatura tem mostrado que a disfunção endotelial é um fator preditivo independente de eventos cardiovasculares podendo ser eventualmente um marcador mais precoce ainda que o próprio IMT-c ^(125,160). Estas alterações em pacientes ainda não expostos a TARV e sem outros fatores de risco para DCV podem demonstrar o papel do HIV *per se* como agente causador da disfunção endotelial, provavelmente relacionado ao grau de inflamação destes pacientes.

Pela pouca utilização das CEP até o momento e pelo fato da infecção pelo HIV ser considerada uma doença inflamatória crônica com potencial para aumentar o risco cardiovascular *per se*, optou-se pela utilização deste biomarcador em um grupo de pacientes ainda não expostos à TARV. Corroborando dados da literatura em pacientes não infectados pelo HIV e considerando a infecção pelo HIV como um possível fator para o desenvolvimento de DCV, foi observada menor porcentagem de CEP nos indivíduos infectados pelo HIV quando comparado a controles pareados por sexo e idade. A literatura ainda é escassa em relação a CEP e pacientes infectados pelo HIV. Papasavvas *et al* ⁽¹⁶⁴⁾ avaliaram as CEP em 66 pacientes

infectados pelo HIV (nove sem prévia exposição à TARV) e um grupo controle (50 indivíduos). A contagem das CEP foi realizada em sangue crio-preservado (que contribui para menor viabilidade celular), diferente desta pesquisa que utilizou apenas sangue fresco. Foram utilizados os mesmos marcadores deste estudo: CD34, CD133 e KDR. Além disso, também foram feitas duas medidas do IMT-c durante um ano de seguimento, que identificaram dois grupos: progressores rápidos (indivíduo com evidência de rápida progressão do IMT-c, $n = 13$, $IMT > 0,2mm$) e progressores lentos (indivíduo com nenhuma ou pouca progressão no IMT-c, $n = 53$, $IMT < 0,2mm$). A mediana da progressão do IMT-c foi 0.3 mm (0.2 a 0.4mm) nos progressores rápidos e 0.01 mm (-0.03 à 0.1mm) para os progressores lentos ⁽¹⁶⁴⁾. Os pacientes infectados pelo HIV apresentaram maiores porcentagens de CEP nas duas medidas quando comparado aos controles (CD34+/KDR+, $P = 0.01$), independentemente do uso de TARV e dos níveis de linfócitos T CD4+. Nos pacientes infectados pelo HIV não houve diferença na frequência das CEP entre os progressores rápidos e lentos no IMT-c e também não foram observadas correlações entre as CEP e IMT-c, CT, TG, HDL-c, LDL-c e PCR. Nos pacientes infectados pelo HIV houve uma correlação fracamente positiva entre os marcadores CD34/KDR e a contagem de linfócitos T CD4+. Em uma sub-análise das CEP nos pacientes com carga viral ($>$ ou $<$ 75 cópias/mL) e/ou linfócitos T CD4+ ($>$ ou $<$ 400 células/mm³) reconfirmou a presença de altas frequências de CEP nos grupos com maiores valores de linfócitos T CD4+ independentemente dos valores da carga viral. Este cenário é diferente do observado nesta pesquisa, que descreveu pacientes infectados pelo HIV e sem exposição à TARV com menores níveis de CEP quando comparado a controles.

Na avaliação das MP plaquetárias não foi observada diferença entre os grupos. Até o momento existem poucos trabalhos publicados na literatura sobre MP e a infecção pelo HIV. Corrales-Medina *et al* ⁽¹⁶⁵⁾ avaliaram MP plaquetárias em 28 pacientes infectados pelo HIV em uso de TARV há pelo menos seis meses, (carga viral $<$ 50 cópias/mL e linfócitos T CD4+ $>$ 200 células/mm³) e 27 controles pareados por sexo e idade. Para a caracterização das MP plaquetárias foram utilizados os mesmos anticorpos desta pesquisa: CD31 e CD42 ⁽¹⁶⁵⁾. Os níveis de MP plaquetárias estavam mais altos entre os pacientes infectados pelo HIV comparado aos controles ($25,28 \times 10^3$

células/mL, *versus* $13,86 \times 10^3$ células/mL, $P = 0.002$)⁽¹⁶⁵⁾. Não foi encontrada relação entre os níveis de MP plaquetárias e a duração da exposição à TARV ou da carga viral indetectável. Altos valores de linfócitos T CD4+ apresentaram, entretanto, uma tendência a correlação negativa com os níveis de MP plaquetárias ($\rho = -0.32$, $P = 0.1$). Estes resultados mostraram que os pacientes infectados pelo HIV com boa resposta a TARV continuam a expressar altos níveis de MP plaquetárias quando comparado aos controles. Sabe-se que as MP plaquetárias podem ter um papel importante na coagulação e inflamação e conseqüentemente importância fisiopatológica em várias doenças. Especula-se que por se tratar de uma amostra relativamente pequena, com pacientes com boa imunidade e baixa carga viral não foram observadas diferenças de valores entre os grupos e tampouco altos níveis de MP plaquetárias.

A avaliação das MP endoteliais diferiu entre os grupos, havendo um aumento significativo no grupo infectado pelo HIV quando comparado ao controle. Inexistem avaliações publicadas até o momento em pacientes infectados pelo HIV que pudessem auxiliar na discussão destes resultados, entretanto sabe-se que MP endoteliais podem ser usadas como novos marcadores de disfunção endotelial, pois refletem diretamente o estado de homeostase entre a ativação celular endotelial, proliferação e apoptose^(21,107). Evidências sugerem que as MP endoteliais estão bastante aumentadas em várias condições patológicas relacionadas à lesão endotelial, tais como hipertensão arterial, dislipidemia, DM, tabagismo, DAC, púrpura trombocitopênica trombótica e insuficiência cardíaca⁽¹⁰⁷⁾. A infecção pelo HIV pode levar a disfunção endotelial o que foi evidenciado neste estudo pela menor DMF e deste modo, influenciar o aumento das MP endoteliais. Além disso, o menor número de CEP nos pacientes infectados pelo HIV corrobora para a maior porcentagem de MP endotelial neste grupo, já que estas MP podem se originar de células endoteliais circulantes maduras e daquelas provenientes da parede celular. Não se pode excluir também a possibilidade de algumas MP circulantes serem originadas de células progenitoras porque elas compartilham marcadores protéicos semelhantes⁽¹⁰⁷⁾.

Foi possível observar no grupo de pacientes infectados pelo HIV evidências de disfunção endotelial precoce sejam elas em nível celular,

(diminuição de CEP e aumento de MP) e funcionais com a diminuição da DMF. Estas evidências direcionam os estudos de doença aterosclerótica em pacientes infectados HIV mesmo na fase assintomática da doença. Estes dados auxiliam na sustentação de que o HIV *per se* está relacionado com o aumento do risco cardiovascular, sugerindo com isso uma avaliação precoce do “estado” vascular e a adoção de medidas de prevenção primária. Isto auxilia na discussão quanto a introdução precoce da TARV dado o potencial trombogênico da infecção pelo HIV não controlada. Neste contexto, a adoção de estilo de vida saudável, o uso de fármacos como estatinas ou bloqueadores do sistema renina angiotensina tem sido propostos para correção do desbalanço vascular. Entretanto, avaliações de longo prazo destas medidas na população em geral ainda não são descritas, sendo ainda mais restritas estas informações em pacientes infectados pelo HIV com ou sem TARV.

7. CONCLUSÕES

- Foi observada menor porcentagem de células endoteliais progenitoras em pacientes infectados pelo HIV quando comparado aos controles;
- Foram observadas quantidades mais elevadas de micropartículas endoteliais no grupo infectado pelo HIV quando comparado aos controles;
- Diferenças no perfil bioquímico dos pacientes foram discretas e limitadas ao perfil lipídico (colesterol total e HDL-c)
- Não foi observada diferença no grau de desenvolvimento anatômico da aterosclerose subclínica por meio da medida da espessura média intimal carotídea;
- Foi observada disfunção endotelial no grupo infectado pelo HIV por meio da dilatação mediada pelo fluxo.

8. ANEXOS

Anexo 1 - Termo de Consentimento livre e Esclarecido - Voluntários

Título do projeto: **“Avaliação de Aterosclerose Subclínica”**

Você está sendo convidado para participar desta pesquisa voluntariamente. Você pode escolher livremente se quer ou não participar. Por favor, leia cuidadosamente o que está apresentado a seguir e pergunte qualquer dúvida que você possa ter. Este estudo está sendo conduzido pela Disciplina de Infectologia da Escola Paulista de Medicina (EPM)/UNIFESP e pelo Setor de Lípidos, Aterosclerose e Biologia Vasculare da Disciplina de Cardiologia (EPM)/UNIFESP.

Este é um estudo descritivo e essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária, que visa avaliar o risco do desenvolvimento de aterosclerose (depósito de gordura nos vasos sanguíneos). Os exames são necessários para correlacionar a quantidade de gordura presente no sangue com a depositada na artéria carótida. Após a realização destes exames será possível quantificar o seu risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular.

Se você aceitar participar, você deverá passar por uma entrevista após a sua consulta de rotina com a Dra. Érika Ferrari Rafael da Silva, responsável por esta pesquisa e responder a um questionário anteriormente elaborado com duração de aproximadamente 15 minutos e realizar na ocasião exame de sangue, onde serão colhidos 30 ml de sangue para a realização da contagem das células endoteliais progenitoras, micropartículas e exame físico para atender aos objetivos do estudo. A coleta do sangue será por punção periférica da veia do antebraço. Os demais exames de sangue (colesterol total e frações, triglicérides, glicemia, proteína C reativa, apolipoproteína B) serão consultados do seu prontuário. Será agendando posteriormente um exame de ultrassonografia da artéria carótida que será realizado no Setor de Lípidos, Aterosclerose e Biologia Vasculare. O exame de ultrassonografia da artéria carótida é um exame não invasivo (não necessita de punção). Este exame é realizado na posição deitada e com a utilização de um transdutor que será colocado na face lateral do seu pescoço (na altura da bifurcação das artérias carótidas). Este exame será realizado pelos médicos Dr. Carlos Manoel de Castro Monteiro e Dr. Sergio Augusto Bueno Brandão, cardiologistas do Setor de Lípidos, Aterosclerose e Biologia Vasculare da Disciplina de Cardiologia.

Os riscos de participação são mínimos, pois a quantidade de sangue que será colhida da sua veia periférica do antebraço é segura. O exame de sangue será colhido como na rotina do seu acompanhamento. Pode aparecer algum hematoma ou dor no local da picada. Para a realização do exame de ultrassonografia de carótida os riscos são mínimos pois não existem procedimentos invasivos. Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelo procedimento proposto neste estudo (coleta de sangue ou realização da

ultrassonografia da artéria carótida), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

Não há benefício direto para o participante. Trata-se de um estudo descritivo testando a hipótese de que o aumento dos níveis de gordura no seu sangue podem contribuir para o acúmulo de gordura nos vasos do sangue (aterosclerose). Somente no final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício.

Não existem outros procedimentos alternativos vantajosos para a detecção da aterosclerose subclínica, que não incluam a realização de exames de sangue a sua correlação com exames de imagem (ultrassonografia de carótida)

Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para o esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Dra Érika Ferrari Rafael da Silva, que pode ser encontrada no endereço Rua Loefgren, 1588, telefone 5573 5081. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Botucatu, 572 – 1º andar – cj 14, 5571-1062, FAX: 5539-7162 – E-mail: cepunifesp@epm.br.

É garantida a liberdade de retirada de consentimento a qualquer momento, e deixar de participar da pesquisa, sem qualquer prejuízo à continuidade do tratamento na instituição participante.

Caso você concorde em participar, seu nome e as informações que você fornecer serão mantidos em sigilo e somente os pesquisadores terão o acesso direto a estes registros e aos resultados dos exames. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação (nome) de nenhum paciente (direito de confidencialidade).

Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais da pesquisa que seja de conhecimento do pesquisador principal.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

O pesquisador desta pesquisa tem o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Avaliação de Aterosclerose subclínica". Eu discuti com o Dra. Érika Ferrari Rafael da Silva sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal*

data: _____

Assinatura da Testemunha

data: _____

* para casos de pacientes analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o consentimento livre e esclarecido deste paciente legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

data: _____

Anexo 2 - Termo de Consentimento livre e Esclarecido

Título do projeto: “Avaliação de Aterosclerose Subclínica em Pacientes Infectados pelo HIV”

Você está sendo convidado para participar desta pesquisa voluntariamente. Você pode escolher livremente se quer ou não participar. Por favor, leia cuidadosamente o que está apresentado a seguir e pergunte qualquer dúvida que você possa ter. Este estudo está sendo conduzido pela Disciplina de Infectologia da Escola Paulista de Medicina (EPM)/UNIFESP e pelo Setor de Lípidos, Aterosclerose e Biologia Vasculare da Disciplina de Cardiologia (EPM)/UNIFESP.

Este é um estudo descritivo e essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária, que visa avaliar o risco do desenvolvimento de aterosclerose (depósito de gordura nos vasos sanguíneos) em pessoas portadoras do vírus HIV. Os exames são necessários para correlacionar a quantidade de gordura presente no sangue com a depositada na artéria carótida. Após a realização destes exames será possível quantificar o seu risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular.

Se você aceitar participar, você deverá passar por uma entrevista após a sua consulta de rotina com a Dra. Érika Ferrari Rafael da Silva, responsável por esta pesquisa e responder a um questionário anteriormente elaborado com duração de aproximadamente 15 minutos e realizar na ocasião exame de sangue, onde serão colhidos 30 ml de sangue para a realização da contagem das células endoteliais progenitoras, micropartículas e exame físico para atender aos objetivos do estudo. A coleta do sangue será por punção periférica da veia do antebraço. Os demais exames de sangue (colesterol total e frações, triglicérides, glicemia, proteína C reativa, apolipoproteína B e contagem de células CD4+ e carga viral do HIV) serão consultados do seu prontuário. Será agendando posteriormente um exame de ultra-sonografia da artéria carótida que será realizado no Setor de Lípidos, Aterosclerose e Biologia Vasculare. O exame de ultrassonografia da artéria carótida é um exame não invasivo (não necessita de punção). Este exame é realizado na posição deitada e com a utilização de um transdutor que será colocado na face lateral do seu pescoço (na altura da bifurcação das artérias carótidas). Este exame será realizado pelos médicos Dr. Carlos Manoel de Castro Monteiro e Dr. Sergio Augusto Bueno Brandão, cardiologistas do Setor de Lípidos, Aterosclerose e Biologia Vasculare da Disciplina de Cardiologia.

Os riscos de participação são mínimos, pois a quantidade de sangue que será colhida da sua veia periférica do antebraço é segura. O exame de sangue será colhido como na rotina do seu acompanhamento. Pode aparecer algum hematoma ou dor no local da picada. Para a realização do exame de ultrassonografia de carótida os riscos são mínimos pois não existem procedimentos invasivos. Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelo procedimento proposto neste estudo (coleta de sangue ou realização da

ultrassonografia da artéria carótida), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

Não há benefício direto para o participante. Trata-se de um estudo descritivo testando a hipótese de que a infecção pelo HIV pode contribuir para o acúmulo de gordura nos vasos do sangue. Somente no final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício.

Não existem outros procedimentos alternativos vantajosos para a detecção da aterosclerose subclínica, que não incluam a realização de exames de sangue a sua correlação com exames de imagem (ultrassonografia de carótida)

Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para o esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Dra Érika Ferrari Rafael da Silva, que pode ser encontrada no endereço Rua Loefgren, 1588, telefone 5573 5081. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Botucatu, 572 – 1º andar – cj 14, 5571-1062, FAX: 5539-7162 – E-mail: cepunifesp@epm.br

É garantida a liberdade de retirada de consentimento a qualquer momento, e deixar de participar da pesquisa, sem qualquer prejuízo à continuidade do tratamento na instituição participante.

Caso você concorde em participar, seu nome e as informações que você fornecer serão mantidos em sigilo e somente os pesquisadores terão o acesso direto a estes registros e aos resultados dos exames. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação (nome) de nenhum paciente (direito de confidencialidade).

Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais da pesquisa que seja de conhecimento do pesquisador principal.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

O pesquisador desta pesquisa tem o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Avaliação de Aterosclerose Subclínica em Pacientes Infectados pelo HIV" Eu discuti com o Dra. Érika Ferrari Rafael da Silva sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal*

data: _____

Assinatura da Testemunha

data: _____

* para casos de pacientes analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o consentimento livre e esclarecido deste paciente legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

data: _____

Anexo 3 - Questionário

Data da aplicação do questionário:

Número do prontuário:

Nome:

Data de nascimento: _____ idade _____

Sexo: () masculino () feminino

Raça: () branca () parda () negra () amarela

Forma de Contágio: () heterossexual () homossexual () bissexual () UDEV

() transfusão de sangue () outras: _____

Ano do diagnóstico da infecção pelo HIV:

Data e valor do primeiro CD4+:

Dados antropométricos:

Pressão arterial:

Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____

Circunferência abdominal: _____ Circunferência do quadril: _____ RCQ: _____

Fatores de risco relacionados ao desenvolvimento de doença cardiovascular

	sim	não
Tabagismo (maços/ano: _____)		
História Familiar Precoce de Aterosclerose		
Diabetes		
Hipertensão arterial sistêmica		

Medicações em uso:

Exames

Colesterol total mg/dL	CD4 (data e valor) Células/ μ l
HDL-C mg/dL	Carga Viral do HIV Cópias/mL
LDL-C mg/dL	Apolipoproteína B
Triglicérides mg/dL	
Glicemia mg/dL	
Proteína C reativa	
Células progenitoras	endoteliais

Ultrassonografia de carótida:

Anexo 4. Valores de Referência para o diagnóstico da dislipidemia em adultos acima de 20 anos

Classificação de Triglicérides

Valores (mg/dL)	Classificação
< 150	Normal
150 – 199	Limítrofe
200 – 499	Alto
≥500	Muito alto

Classificação do LDL - Colesterol

Valores (mg/dL)	Classificação
< 100	Ótimo
100 – 129	Bom
130 – 159	Limítrofe
160 – 189	Alto
≥ 190	Muito Alto

Classificação do Colesterol Total

Valores (mg/dL)	Classificação
< 200	Desejável
200 – 239	Limítrofe
≥ 240	Alto

Classificação do HDL – Colesterol

Valores (mg/dL)	Classificação
< 40	Alto risco
≥ 60	Baixo risco

Fonte: III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemia e Diretriz de Prevenção de Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2001⁽¹³⁰⁾

Anexo 5 – Técnica de Medição de Pressão Arterial (VI Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o manejo da Hipertensão Arterial - 2010) ⁽¹³¹⁾

- 1- O paciente deverá estar sentado
- 2- Explicar o procedimento para o paciente, orientar que não fale e deixar que descanse por 5 a 10 minutos em ambiente calmo.
- 3- Utilizar manguito de tamanho adequado ao braço do paciente, cerca de 2 a 3 cm acima da fossa antecubital, centralizando a bolsa de borracha sobre a artéria braquial. A largura da bolsa de borracha deve corresponder a 40% da circunferência do braço e seu comprimento envolver pelo menos 80%
- 4- Manter o braço do paciente na altura do coração, livre de roupas, com a palma da mão voltada para cima e cotovelo ligeiramente fletido.
- 5- Palpar o pulso radial e inflar o manguito até seu desaparecimento, para estimativa do nível da pressão sistólica; desinflar rapidamente e aguardar um minuto antes de inflar novamente.
- 6- Posicionar a campânula do estetoscópio suavemente sobre a artéria braquial, na fossa antecubital, evitando compressão excessiva.
- 7- Inflar rapidamente, de 10 em 10 mmHg, até ultrapassar, de 20 a 30 mmHg, o nível estimado de pressão sistólica. Proceder a deflação, com velocidade constante inicial de 2 a 4 mmHg por segundo. Após a identificação do som que determina a pressão sistólica, aumentar a velocidade para 5 a 6 mmHg para evitar a congestão venosa e o desconforto do paciente.
- 8- Determinar a pressão sistólica no momento do aparecimento do primeiro som (fase I de Korotkoff), seguido de batidas regulares que se intensificam com o aumento da velocidade de deflação. Determinar a pressão diastólica no desaparecimento do som (fase V de Korotkoff). Auscultar cerca de 20 a 30 mmHg abaixo do último som para confirmar seu desaparecimento e depois proceder a deflação rápida e completa. Quando os batimentos persistirem até o nível zero, determinar a pressão diastólica no abafamento dos sons (fase IV de Korotkoff), anotar os valores da sistólica/diastólica/zero.
- 9- Registrar os valores das pressões sistólica e diastólica e não arredondar os valores de pressão arterial para dígitos terminados em zero ou cinco.
- 10- Informar o paciente sobre os valores medidos e da possível necessidade de acompanhamento.

Anexo 6 – Técnica de Medição de Peso e Estatura

Peso e Estatura

O Peso e Estatura serão aferidos, segundo recomendações da Secretaria de Estado da Saúde (SES).

TÉCNICA DE MEDIÇÃO DE PESO E ESTATURA

1. Tomada de peso

- Calibrar a balança, cuidadosamente antes de cada pesagem.
- Pesar o paciente sem sapatos. Com o mínimo de roupas possível.
- O paciente deve ficar bem no centro da balança.
- Movimentar o peso grande até o peso provável do paciente.
- Movimentar o peso pequeno até a balança ficar em equilíbrio.
- O peso deve ser registrado em gramas, com variação de 100 gramas.

2. Medição da altura

- Utilizar fita métrica aplicada na parede a 50 cm do chão.
- Coletar a medida com o paciente descalço, em posição ereta, encostando cabeça, nádegas, panturrilhas e calcanhares na parede.
- Segurar o queixo e fazer ligeira tração da cabeça para que o topo da orelha e o ângulo externo do olho formem uma linha paralela ao teto.
- Apoiar no topo da cabeça um esquadro de alumínio para ajudar a demarcar corretamente a medida, sendo que os cabelos deverão estar soltos.
- A altura será medida em metros

Anexo 7 – TÉCNICA DE MEDIÇÃO DA CIRCUNFERÊNCIA DA CINTURA DE QUADRIL

Circunferência da Cintura

A medição deve ser realizada com o paciente em pé, utilizando-se uma fita não extensível. A fita deverá circundar o indivíduo na linha natural da cintura, na região mais estreita entre o tórax e o quadril, no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca. A leitura deve ser feita no momento da expiração.⁽¹³²⁾

Circunferência do Quadril

A medição deve ser realizada com o paciente em pé, utilizando-se uma fita não extensível. A fita deverá circundar o quadril na região de maior perímetro entre a cintura e a coxa, com o indivíduo usando roupas finas.⁽¹³²⁾

Anexo 8 – Resultados da contagem das células endoteliais progenitoras e micropartículas no grupo infectado pelo HIV.

MP plaquetária	MP endotelial	CD34/KDR	CD34/CD133	KDR/CD133
3629	160			
45053	3346	-	-	-
86328	32	-	-	-
53308	4.299	-	-	-
6472	41	-	-	0,06
17023	612	0,09	0,01	0,02
29672	2959	0,17	0,10	-
19541	1.819	0,01	-	-
40958	0	-	-	-
18535	0	-	-	-
		0,07	-	-
33610	0	-	-	-
7682	0	-	-	-
11293	208	-	0,02	-
27402	1.868	0,13	-	-
24176	2552	0,05	0,01	-
45617	20.980	-	-	-
2626	22	-	-	-
		-	-	-
22495	1737	-	-	-
14397	948	0,02	-	-
7780	57	-	-	-
5155	1289	-	-	-
2174	0			
55239	2424	0,01	-	-
22495	1737	-	-	-
		0,01	-	-
32214	7185	0,04	0,01	-
5303	0	0,10	0,02	0,10
33610	0	-	-	-
5907	1078			
29886	630	-	-	-
22342	998	0,03	-	-
42840	3880	-	-	-

Anexo 9 – Resultados da contagem das células endoteliais progenitoras e micropartículas no grupo controle.

MP plaquetária	MP endotelial	CD34/KDR	CD34/CD133	KDR/CD133
20668	-	0,01	0,01	-
9719	-	0,05	-	-
15642	-	0,02	0,01	0,04
12148	693	0,06	-	-
24524	852	0,40	0,14	-
8983	107	0,02	0,04	-
27579	0	-	-	-
29892	1.633	0,02	0,01	0,05
30501	38	0,09	0,01	0,09
29892	-	0,17	0,04	-
7466	462	-	-	-
9895	386	-	-	-
19315	931	0,10	-	0,06
17091	1.091	0,12	0,03	-
2257	0	-	-	-
2257	0	-	-	-
191374	47	0,27	-	0,02
149359	0	-	-	-
79727	0	0,02	0,01	0,03
21538	7	-	-	-
25527	627	-	-	0,01
19184	0	0,05	0,02	0,03
29047	0	-	-	-
7308	0	0,03	0,01	-
5517	0	0,10	0,01	-
19498	4547	-	-	-
8532	0	0,56	0,01	-
10082	0	-	-	0,13
4384	0	-	-	-
8397	0	0,06	0,05	-
4055	1191	-	-	-
1197	1340	0,77	-	-



Universidade Federal de São Paulo

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São PauloSão Paulo, 4 de julho de 2008.
CEP 0874/08

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a) ERIKA FERRARI RAFAEL DA SILVA
Co-Investigadores: David Salomão Lewi (orientador), Francisco A H Fonseca, Carolina Nunes França
Disciplina/Departamento: Infectologia / Medicina da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo
Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: “**Avaliação da aterosclerose subclínica em pacientes infectados pelo HIV**”.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Estudo clínico observacional transversal.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Risco mínimo, desconforto leve, envolvendo coleta de sangue.

OBJETIVOS: Medir o número de EPCs e correlacionar com os fatores de risco cardiovascular em pacientes infectados pelo HIV virgens de tratameto anti-retroviral. Avaliar a presença de aterosclerose subclínica em pacientes infectados pelo HIV sem uso de anti-retrovirais através do espessamento médio intimal das carótidas (IMT-c). Avaliar o risco cardiovascular em pacietnes infectados pelo HIV sem uso de anti-retrovirais através da escala de risco de Framingham e escala PROCAM e confrontar os dados encontrados por estas duas escalas. Avaliar a presença de síndrome metabólica nos pacientes infectados pelo HIV que não utilizam anti-retrovirais.

RESUMO: O paciente que cumprir os critérios de inclusão será convidado a participar do projeto pelo médico que o atende, durante uma consulta de rotina. Será aplicado um questionário previamente estabelecido, para obtenção de dados demográficos, clínicos e antropométricos e presença de fatores de risco relacionados com doença arterial coronariana. Serão submetidos à coleta de sangue para dosagens laboratoriais bioquímicas (rotina de acompanhamento ambulatorial desses pacientes) e os exames de carga viral do HIV e contagem de células CD4+/CD8+ serão obtidos do prontuário do paciente. A contagem das células endoteliais progenitoras serão realizadas utilizando um citômetro de fluxo da Disciplina de Infectologia. A medida do espessamento médio intimal da artéria carótida interna (IMT), será realizada pela técnica da ultra-sonografia, por ser um exame com boa acurácia, reprodutibilidade e sensível nas investigações das alterações cardiovasculares..

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Espera-se com essa pesquisa, aferir qual a influência do vírus HIV no desencadeamento da aterosclerose. Espera-se encontrar alterações metabólicas como dislipidemia, diminuição da contagem de células endoteliais progenitoras e prevalência aumentada de aterosclerose subclínica nesta população quando comparada ao grupo cintrole pareado pelo sexo e idade não infectado pelo HIV.

MATERIAL E MÉTODO: Descritos os procedimentos que serão realizados. Foram esclarecidas as pendências emitidas pelos relatores..

TCLE: Apresentado adequadamente, de acordo com a Res 196/96.



Universidade Federal de São Paulo

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

DETALHAMENTO FINANCEIRO: Sem financiamnto externo.

CRONOGRAMA: 24 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: Doutorado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 29/6/2009 e 29/6/2010.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU e APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medeira Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

0874/08

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aids Epidemic Update, Dezembro 2010. Disponível em: <http://www.unaids.org/epi/2010/doc/download.asp>.
2. Boletim Epidemiológico – AIDS- DST. Ano VI volume I- Ministério da Saúde – Brasília – 2010. Disponível em www.aids.gov.br
3. Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO., Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining Morbidity and Mortality among patients with advanced Human Immunodeficiency Virus Infection. *N Engl J Med*. 1998; 338:853-60.
4. Palella FJ Jr, Baker RK, Moorman AC, Chmiel JS, Wood KC, Brooks JT, et al. HIV Outpatient Study Investigators. Mortality in the highly active antiretroviral therapy era: changing causes of death and disease in the HIV outpatient study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2006; 43(1):27-34.
5. Sackoff JE, Hanna DB, Pfeiffer MR, Torian LV. Causes of death among persons with AIDS in the era of highly active antiretroviral therapy: New York City. *Ann Intern Med*. 2006; 145(6):397-406.
6. Carr A, Samaras K, Burton S, Law M, Freund J, Chisholm DJ, et al. A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *AIDS*. 1998; 12, F51-F58.
7. Hsue PY, Hunt PW, Schnell A, Kalapus SC, Hoh R, Ganz P et al. Role of viral replication, antiretroviral therapy, and immunodeficiency in HIV-associated atherosclerosis. *AIDS*. 2009; 23(9):1059-67.
8. Obel N, Thomsen HF, Kronborg G, Larsen CS, Hildebrandt PR, Soerensen, et al. Ischemic heart disease in HIV-infected and HIV uninfected individuals: a population-based cohort study. *Clin Infect Dis*. 2007; 44:1625-31.
9. Triant VA, Lee H, Hadigan C, Grinspoon SK: Increased acute myocardial infarction rates and cardiovascular risk factors among patients with human immunodeficiency virus disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92:2506-12.
10. Zareba KM, Lipshultz SE. Cardiovascular Complications in Patients with HIV Infection. *Curr Infect Dis Rep*. 2003; 5(6):513-520
11. Lipshultz SE, Fisher SD, Lai WW, Miller TL. Cardiovascular risk factors, monitoring, and therapy for HIV-infected patients. *AIDS*. 2003 r; 17 Suppl 1:S96-122.

12. Zareba KM, Miller TL, Lipshultz SE. Cardiovascular disease and toxicities related to HIV infection and its therapies. *Expert Opin Drug Saf.* 2005; 4(6):1017-25.
13. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature.* 2002; 420(6917):868-74.
14. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation.* 2002; 106: 3143-421.
15. Eriksson U, Opravil M, Amann FW, Schaffner A. Is treatment with ritonavir a risk factor for myocardial infarction in HIV-infected patients? *AIDS.* 1998; 12(15):2079-80.
16. Henry K, Melroe H, Huebsch J, Hermundson J, Levine C, Swensen L, et al. Severe premature coronary artery disease with protease inhibitor. *Lancet.* 1998; 351:1328.
17. van Leuven SI, Sankatsing RR, Vermeulen JN, Kastelein JJ, Reiss P, Stroes ES. Atherosclerotic vascular disease in HIV: it is not just antiretroviral therapy that hurts the heart! *Curr Opin HIV AIDS.* 2007; 2(4):324-31.
18. Ho JE, Hsue PY. Cardiovascular Manifestations of HIV infection. *Heart.* 2009; 95:1193-1202.
19. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med.* 2003; 348(7):593-600.
20. Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res.* 2001; 89: E1-7.
21. Mostefai HA, Andriantsitohaina R, Martínez MC. Plasma membrane microparticles in angiogenesis: role in ischemic diseases and in cancer. *Physiol Res.* 2008; 57(3):311-20.
22. Bernal-Mizrachi L, JY W, Jimenez JJ, Pastor J, Mauro LM, Horstaman LL et al. High levels of circulating endothelial microparticles in patients with acute coronary syndromes. *Am Heart J.* 2003; 145:962-970.
23. Martínez MC, Tesse A, Zobairi F, Andriantsitohaina R. Shed membrane microparticles from circulating and vascular cells in regulating vascular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005; 288(3):H1004-9.

24. Siscovick DS, Schwartz SM, Corey L, et al. Chlamydia pneumoniae, herpes simplex virus type 1, and cytomegalovirus and incident myocardial infarction and coronary heart disease death in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 2000; 102:2335–40.
25. Ericson K, Saldeen TG, Lindquist O, Pahlson C, Mehta JL. Relationship of Chlamydia pneumoniae infection to severity of human coronary atherosclerosis. *Circulation*. 2000; 101: 2568–71.
26. Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ, Wang F. Prospective study of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and the risk of future myocardial infarction and stroke. *Circulation*. 1998; 98:2796–9.
27. Kuvin JT, Kimmelstiel CD. Infectious causes of atherosclerosis. *Am Heart J*. 1999; 137:216–26.
28. Meredith IT, Anderson TJ, Uehata A, Yeung AC, Selwyn AP, Ganz P. Role of endothelium in ischemic coronary syndromes. *Am J Cardiol*. 1993; 72:27C–31C.
29. Matz RL, Andriantsitohaina R. Age-related endothelial dysfunction: potential implications for pharmacotherapy. *Drugs Aging*. 2003; 20:527–50.
30. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001; 104: 2673–8.
31. Prasad A, Zhu J, Halcox JP, Waclawiw MA, Epstein SE, Quyyumi AA. Predisposition to atherosclerosis by infections: role of endothelial dysfunction. *Circulation*. 2002; 106:184–90.
32. Marchesi S, Lupattelli G, Lombardini R, Sensini A, Siepi D, Mannarino M. Acute inflammatory state during influenza infection and endothelial function. *Atherosclerosis*. 2005; 178:345–50.
33. Paton P, Tabib A, Loire R, Tetê R. Coronary artery lesions and human immunodeficiency virus infection. *Res Virol*. 1993; 144:225-31
34. Tabib A, Greenland T, Mercier I, Loire R, Mornex JFI. Coronary artery lesions in young HIV positive patients at necropsy. *Lancet*. 1992, 340:1039-40.
35. Joshi W, Pawel B, Connor E et al. Arteriopathy in children with acquired immune deficiency syndrome. *Pediatr Pathol*. 1987; 7: 261-75.
36. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Inflammation in Atherosclerosis. From Pathophysiology to Practice. *J Am Coll Cardiol*. 2009; 54:2129-38.

37. Ross R. Atherosclerosis as an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340:115-26.
38. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005; 352(16):1685-95.
39. Lessner SM, Prado HL, Waller EK, Galis ZS. Atherosclerotic lesions grow through recruitment and proliferation of circulating monocytes in a murine model. *Am J Pathol.* 2002; 160(6):2145-55.
40. Kim CJ, Khoo JC, Gillotte-Taylor K, Li A, Palinski W, Glass CK, et al. Polymerase chain reaction-based method for quantifying recruitment of monocytes to mouse atherosclerotic lesions in vivo: enhancement by tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20(8):1976-82.
41. Swirski FK, Pittet MJ, Kircher MF, Aikawa E, Jaffer FA, Libby P, et al. Monocyte accumulation in mouse atherogenesis is progressive and proportional to extent of disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103(27):10340-5.
42. Thieblemont N, Weiss L, Sadeghi HM, Estcourt C, Haeffner-Cavaillon N. CD14^{low}CD16^{high}: a cytokine-producing monocyte subset which expands during human immunodeficiency virus infection. *Eur J Immunol.* 1995; 25(12):3418-24.
43. Schlitt A, Heine GH, Blankenberg S, Espinola-Klein C, Dopheide JF, Bickel C, et al. CD14⁺CD16⁺ monocytes in coronary artery disease and their relationship to serum TNF-alpha levels. *Thromb Haemost.* 2004; 92(2):419-24.
44. Belge KU, Dayyani F, Horelt A, Siedlar M, Frankenberger M, Frankenberger B, et al. The proinflammatory CD14⁺CD16⁺DR⁺⁺ monocytes are a major source of TNF. *J Immunol.* 2002; 168(7):3536-42.
45. Tilton JC, Johnson AJ, Luskin MR, Manion MM, Yang J, Adelsberger JW, et al. Diminished production of monocyte proinflammatory cytokines during human immunodeficiency virus viremia is mediated by type I interferons. *J Virol.* 2006; 80(23):11486-97.
46. Lederman M, Kalish LA, Asmuth D, Fiebig E, Mileno M, Busch MP 'Modeling' relationships among HIV-replication, immune activation and CD4⁺ T-cell losses using adjusted correlative analyses. *AIDS* 2000; 14: 951–958.
47. Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson GK. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis.* 1986; 6(2):131-8.

48. Hellerstein MK, Hoh RA, Hanley MB, Cesar D, Lee D, Neese RA, et al. Subpopulations of long-lived and short-lived T cells in advanced HIV-1 infection. *J Clin Invest.* 2003; 112(6):956-66.
49. Walker BD, Chakrabarti S, Moss B, Paradis TJ, Flynn T, Durno AG, et al. HIV-specific cytotoxic T lymphocytes in seropositive individuals. *Nature.* 1987; 328(6128):345-8.
50. Melnick JL, Adam E, DeBakey ME. Possible role of cytomegalovirus in atherogenesis. *JAMA.* 1990; 263(16):2204-7.
51. Hsue PY, Hunt PW, Sinclair E, Brecht B, Franklin A, Killian M et al. Increased carotid intima media thickness in HIV patients is associated with increase cytomegalovirus-specific T-cell responses. *AIDS.* 2006; 20:2275-2283.
52. Seigneur M, Constans J, Blann A, Pellegrin JL, Conri C. Soluble adhesion molecules and endothelial cell damage in HIV infected patients. *Thromb Haemost.* 1997; 77:646–649.
53. Melendez MM, McNurlan MA, Mynarcik DC, Khan S, Gelato MC. Endothelial adhesion molecules are associated with inflammation in subjects with HIV disease. *Clin Infect Dis.* 2008; 46:775–780.
54. Dubé MP, Lipshultz SE, Fichtenbaum CJ, et al.: Working Group 3: Effects of HIV infection and antiretroviral therapy on the heart and vasculature. *Circulation.* 2008; 118:e36–e40.
55. Solages A, Vita JA, Thornton DJ, Murray J, Heeren T, Craven DE et al.: Endothelial function in HIV-infected persons. *Clin Infect Dis.* 2006; 42:1325–1332.
56. Hsue PY, Lo JC, Franklin A, Bolger AF, Martin JN, Deeks SG. et al. Progression of atherosclerosis as assessed by carotid intima-media thickness in patients with HIV infection. *Circulation.* 2004; 109:1603-1608.
57. Bongiovanni M, Casana M, Cicconi P, Pisacreta M, Codemo R, Pelucchi M et al Predictive factors of vascular intima media thickness in HIV-positive subjects. *Journal Antimicrob Chemother.* 2008; 61:195–199.
58. O’Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. *Cardiovascular Health Study Collaborative Research and stroke in older adults. N Engl J Med.* 1999; 340:14-22.
59. Crouse JRI, Craven TE, Hagaman AP, Bond MG. Association of coronary disease with segment-specific intimal-medial thickening of the extracranial carotid artery. *Circulation.* 1995; 92:1141-1147.

60. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. 1987-1993. *Am J epidemiol.* 1997; 146:483-494.
61. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti, R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation.* 1986; 74: 1399-1406.
62. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofmann A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation.* 1997; 96:1432-1437.
63. Haffner SM, Agostino RD Jr, Saad MF, O'Leary DH, Savage PJ, Rewers M et al. Carotid artery atherosclerosis in type-2 diabetic and nondiabetic subjects with and without symptomatic coronary artery disease (The Insulin Resistance Atherosclerosis Study). *Am J Cardiol.* 2000; 85:1395-1400..
64. Yamasaki Y, Kodama M, Nishizawa H, Sakamoto K, Matsuhisa M, Kajimoto Y et al. Carotid intima-media thickness in Japanese type 2 diabetic subjects: predictors of progression and relationship with incident coronary heart disease. *Diabetes Care.* 2000; 23:1310-1315.
65. Lekakis JP, Papamichael CM, Cimponeriu AT, Stamatelopoulos KS, Papaioannou TG, Kanakakis J et al. Atherosclerotic changes of extracoronary arteries are associated with the extent of coronary atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 2000; 85:949-952.
66. Vallance P., Collier J., Bhagat K. Infection, inflammation, and infarction: does acute endothelial dysfunction provide a link? *Lancet.* 1997; 349 (9062):1391-2.
67. Periard D., Telenti A., Sudre P., Cheseaux JJ, Halton P, Reymond MJ. et al. Atherogenic dyslipidemia in HIV-infected individuals treated with protease inhibitors. The Swiss HIV Cohort Study. *Circulation.* 1999; 100(7):700-5.
68. Lekakis J.P., Papamichael C.M., Vemmos C.N., Voutsas AA, Stamatelopoulos SF, Mouloupoulos SD. Peripheral vascular endothelial dysfunction in patients with angina pectoris and normal coronary arteriograms. *J Am Coll Cardiol.* 1998; 31(3):541-6.
69. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340:115-126.
70. Verma S., Anderson T.J. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation.* 2002;105(5):546-9

71. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction. A marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23: 168–75.
72. Moncada S and Higgs EA: The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *Br J Pharmacol.* 2006; 147(Suppl 1): 193–201
73. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK and Deanfield JE: Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet.* 1992; 340:1111–1115.
74. Russo G, Leopold JA, and Loscalzo J: Vasoactive substances: Nitric oxide and endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Vascul Pharmacol.* 2002; 38(5):259–269.
75. Blankenberg S., Barbaux S., Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2003; 170(2):191-203.
76. Tousoulis D., Charakida M., Stefanadis C. Endothelial function and inflammation in coronary artery disease. *Heart.* 2005; 91(10): 1319-23.
77. Blann A.D., Taberner D.A. A reliable marker of endothelial cell dysfunction: does it exist? *Br J Haematol* 1995; 90(2):244-8.
78. de Gaetano Donati K, Rabagliati R, Iacoviello L, Cuda R. HIV infection, HAART, and endothelial adhesion molecules: current perspectives. *Lancet Infect Dis.* 2004; 4(4):213-22.
79. Ostrowski M.A., Justement S.J., Catanzaro A., Hallahan CA, Ehler LA, Mizell SB et al. Expression of chemokine receptors CXCR4 and CCR5 in HIV-1-infected and uninfected individuals. *J Immunol.* 1998; 161(6):3195-201.
80. Cohen O.J., Kinter A., Fauci A.S. Host factors in the pathogenesis of HIV disease. *Immunol Rev.* 1997; 159:31-48.
81. Banks W.A., Akerstrom V., Kastin A.J. Adsorptive endocytosis mediates the passage of HIV-1 across the blood-brain barrier: evidence for a post-internalization coreceptor. *J Cell Sci.* 1998; 111(Pt 4):533-40.
82. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. *Circulation.* 1998; 97(5):425-8.
83. Ridker PM., Hennekens CH., Roitman-Johnson B Stampfer MJ, Allen J., Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998; 351(9096):88-92.

84. Ridker PM., Vaughan DE, Stampfer MJ. Manson JE, Hennekens CH. Endogenous tissue-type plasminogen activator and risk of myocardial infarction. *Lancet*. 1993; 341(8854):1165-8.
85. Zhong D.S., Lu X.H., Conklin B.S. Lin PH, Lumsden AB, Yao Q, et al. HIV protease inhibitor ritonavir induces cytotoxicity of human endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002 ; 22(10):1560-6.
86. Puppo F., Brenci S., Scudeletti M., Lanza L, Bosco O, Indiveri F. Elevated serum levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 in HIV infection. *AIDS*. 1993; 7(4):593-4.
87. Seigneur M., Constans J., Blann A. Renard M, Pellegrin JL, Amiral J, et al. Soluble adhesion molecules and endothelial cell damage in HIV infected patients. *Thromb Haemost*. 1997; 77(4):646-9.
88. Dube MP SS, Vanderluitgaren JM, Leffler CM, Baron AD, Steinberg HO. Effect of indinavir (IND) monotherapy on endothelial function in men without HIV infection. 9th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; Seattle; February 24–28, 2002.
89. Torriani FJ, Komarow L, Parker RA, Cotter BR, Currier JS, Dubé MP et al. Endothelial function in human immunodeficiency virus-infected antiretroviral- Naïve subjects before and after starting potent antiretroviralTherapy. The ACTG (Aids Clinical Trial Group) Study 5152s. *J Am Coll Cardiol*. 2008; 52: 569–576.
90. Friis-Møller N, Sabin CA, Weber R, d'Arminio Monforte A, El-Sadr WM, Reiss P, et al.; Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (DAD) Study Group. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2003; 349(21):1993-2003.
91. Hadigan C , Meigs JB, Corcovan C, Rietscher P, Piechuch N, Basgoz B et al. Metabolic abnormalities and cardiovascular disease risk factor in adults with HIV infection and lipodystrophy. *Clin Infect Dis*. 2001; 32:103-139.
92. Grinspoon S, Carr A. Cardiovascular risk and body-fat abnormalities in HIV-infected adults. *N Engl J Med*. 2005; 352(1):48-62.
93. Neunteufl T, Heher S, Katzenschlager R, Wöfl G, Kostner K, Maurer G et al. Late prognostic value of flowmediated dilation in the brachial artery of patients with chest pain. *Am J Cardiol*. 2000;86:207-10.
94. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR, Lerman A. Longterm follow-up in patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation*. 2000; 101:948-54.

95. Yeboah J, Crouse JR, Hsu FC, Burke GL and Herrington DM: Brachial flow-mediated dilation predicts incident cardiovascular events in older adults: The cardiovascular health study. *Circulation*. 2007, 115:2390–2397.
96. Rundek T, Hundle R, Ratchford E, Ramas R, Sciacca R, Di Tullio MR, et al. Endothelial dysfunction is associated with carotid plaque: A cross-sectional study from the population based Northern Manhattan study. *BMC Cardiovasc Disord*. 2006, 6:35.
97. Faulx MD, Wright AT, Hoit BD. Detection of endothelial dysfunction with brachial artery ultrasound scanning. *Am Heart J*. 2003; 145(6):943-51.
98. Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Thomas O et al. Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: Accuracy and reproducibility. *Br Heart J* 1995, 74:247–253.
99. Asahara T, Murohara t, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T et al. Isolation of putative endothelial progenitor cells for angiogenesis. *Science*.1997; 275:964-967.
100. Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*. 2005; 353(10):999-1007.
101. Umemura T, Higashi Y. Endothelial progenitor cells: therapeutic target for cardiovascular diseases. *J Pharmacol Sci*. 2008; 108(1):1-6.
102. Umemura T, Higashi Y, Nishioka K, Jitsuiki D, Goto C, Nakamura S et al. Relationship between CD34+AC133+CD45low Endothelial Progenitor Cells and cardiovascular risk factors. *Hypertension*. 2008;50: e130
103. Urbich C, Dimmeler S. Risk factors for coronary artery disease, circulating endothelial progenitor cells, and the role of HMG-CoA reductase inhibitors. *Kidney Int*. 2005; 67(5):1672-6. Review
104. Shi Q, Rafii S, Wu MH, Wijelath ES, Yu C, Ishida A, Fujita Y, Kothari S, Mohle R, Sauvage LR, Moore MA, Storb RF, Hammond WP. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood*. 1998; 92(2):362-7.
105. Honold J, Assmus B, Lehman R, Zeiher AM, Dimmeler S. Stem cell therapy of cardiac disease: an update. *Nephrol Dial Transplant*. 2004; 19(7):1673-7.
106. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, Fujiyama S, Tsutsumi Y, Ozono R et al, Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side

- supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation*. 2001; 104(9):1046-52.
107. Boulanger CM, Amabile N, Tedgui A. Circulating microparticles: a potential prognostic marker for atherosclerotic vascular disease. *Hypertension*. 2006; 48(2):180-6.
 108. Jy W, Horstman LL, Jimenez JJ, Ahn YS, Biró E, Nieuwland R et al. Measuring circulating cell-derived microparticles. *J Thromb Haemost*. 2004; 2(10):1842-51.
 109. Baj-Krzyworzeka M, Majka M, Pratico D, Ratajczak J, Vilaire G, Kijowski J, et al. Platelet-derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion, and chemotaxis of hematopoietic cells. *Exp Hematol*. 2002; 30(5):450-9.
 110. Wang JM, Wang Y, Huang JY, Yang Z, Chen L, Wang LC et al. C-reactive protein-induced endothelial microparticle generation in HUVEC is related to BH4-dependent NO formation. *J Vasc Res*. 2007; 44: 241-248.
 111. Pirro M, Schillaci G, Paltriccia R, Bagaglia F, Menecali C, Mannarino MR, et al. Increased ratio of CD31+/CD42- microparticles to endothelial progenitors as a novel marker of atherosclerosis in hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006; 26(11):2530-5.
 112. Agouni A, Lagrue-Lak-Hal AH, Ducluzeau PH, Mostefai HA, Draunet-Busson C, Leftheriotis G, et al. Endothelial dysfunction caused by circulating microparticles from patients with metabolic syndrome. *Am J Pathol*. 2008; 173(4):1210-9.
 113. Tushuizen ME, Nieuwland R, Rustemeijer C, Hensgens BE, Sturk A, Heine R et al. Elevated endothelial microparticles following consecutive meals are associated with vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2007; 30(3):728-30.
 114. Du Clos TW. Function of C-reactive protein. *Ann Med*. 2000; 32(4):274-8.
 115. Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV et al. A self fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation*. 2002; 106:913-919.
 116. Verma S, Kuliszewski MA, Shu-Hong L, Szmítko PE, Zucco L, Wang CH et al. C-Reactive Protein Attenuates Endothelial Progenitor Cell Survival, Differentiation, and Function. *Circulation*. 2004; 109:r91-r100.
 117. Haverkate F, Thompson SG, Pyke SD, Gallimore JR, Pepys MB. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and

- unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet*. 1997; 349(9050):462-6.
118. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1997; 336(14):973-9.
 119. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2002; 347(20):1557-65.
 120. Pai JK, Pischon T, Ma J, Manson JE, Hankinson SE, Joshipura K, et al. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N Engl J Med*. 2004 ;351(25):2599-610.
 121. Koenig W, Löwel H, Baumert J, Meisinger C. C-reactive protein modulates risk prediction based on the Framingham Score: implications for future risk assessment: results from a large cohort study in southern Germany. *Circulation*. 2004; 109(11):1349-53.
 122. Strandberg TE, Tilvis RS. C-reactive protein, cardiovascular risk factors, and mortality in a prospective study in the elderly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20(4):1057-60
 123. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, et al.. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2004; 350(14):1387-97.
 124. Folsom AR, Chambless LE, Ballantyne CM, Coresh J, Heiss G, Wu KK, et al. An assessment of incremental coronary risk prediction using C-reactive protein and other novel risk markers: the atherosclerosis risk in communities study. *Arch Intern Med*. 2006; 166(13):1368-73.
 125. Spagnoli LG, Bonanno E, Sangiorgi G, Mauriello A. Role of inflammation in atherosclerosis. *J Nucl Med*. 2007; 48(11):1800-15.
 126. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, et al. Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003; 107(3):499-511
 127. Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FAH, Bertolami MC et al. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção de Aterosclerose.

- Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq Bras Cardiol. 2007; (88) Supl I.
128. Lau B, Sharrett R, Kingsley LA, Pot W, Pallela FJ, Visscher B et al. C-reactive protein is a marker for human immunodeficiency virus disease progression. Arch Intern Med 2006. 166: 64–70.
 129. Triant VA, Meigs JB, Grinspoon SK. Association of C-reactive protein and HIV infection with acute myocardial infarction. J Acquir Immune Defic Syndr. 2009; 51(3):268-73.
 130. Santos RD, Giannini SD, Fonseca FAF, Moriguchi EH. III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose do departamento de aterosclerose da sociedade brasileira de cardiologia. Arq Bras Cardiol. 2001; 77 supl III:1-48.
 131. , Nobre F et al VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Rev Bras Hipertens. 2010 (17)1:64. (31/01/2007). Disponível em: <http://departamentos.cardiol.br/dha/ivdiretriz/ivdiretriz.asp>
 132. World Health Organization Expert Committee. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. WHO Technical Report Series 854; 1995.
 133. Assis MA. Consulta de Nutrição. Santa Catarina: Insular, 1997
 134. Halpern A, Carvalho AM, Matos AFG., Rodrigues CB, Baptista DSA., Irrazabal E., et al. Consenso Latinoamericano de Obesidade, – Documento Final. Federación Latino Americana de Sociedades de obesidad (FLASO), Rio de Janeiro, 1998.
 135. Urbina EM, Brinton TJ, Elkasabany A, Berenson GS. Brachial artery distensibility and relation to cardiovascular risk factors in healthy young adults (The Bogalusa Heart Study). Am J Cardiol. 2002; 89(8):946-51.
 136. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarencu P, Bornstein N et al. Mannheim intima-media thickness consensus. Cerebrovasc Dis. 2004; 18(4): 346-9.
 137. Corretti, MC; Anderson, TJ; Benjamin, EJ; Guidelines for the Ultrasound Assessment of Endothelial-Dependent Flow-Mediated Vasodilation of the Braquial Artery. J Am Coll Cardiol. 2002; 39:257-65.
 138. The Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) study Group CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. N Engl J Med. 2006; 355:2283-2296.
 139. Morse CG, Kovacs JA. Metabolic and Skeletal Complications of HIV Infection -The Price of Success. JAMA. 2006; 296(7):844-54.

140. Jaime PC, Florindo AA, Latorre MRDO, Brasil BG, Santos ECM, Segurado AAC. Prevalência de sobrepeso e obesidade abdominal em indivíduos portadores de HIV/AIDS, em uso de terapia antiretroviral de alta potência. *Rev bras epidemiol.* 2004; 7(1):65-72.
141. Crum-Cianflone N, Tejidor R, Medina S, Barahona I. Obesity among patients with HIV: the latest epidemic. *AIDS Patient Care STDs.* 2008; 22(12):925-30.
142. Silva EFR, Bassichetto KC, Lewi DS. Perfil lipídico, fatores de risco cardiovascular e Síndrome Metabólica em um grupo de pacientes com aids. *Arq Bras Cardiol.* 2009; 93(2): 113-118.
143. Hodgson LM, Ghattas H, Pritchitt H, Schwen A, Lara P, Macallan DC. Wasting and obesity in HIV outpatients. *AIDS.* 2001; 15(17): 2341-42.
144. Simon V, Ho DD, Abdool Karim Q. HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment. *Lancet.* 2006; 368(9534):489-504.
145. Recomendações para terapia antirretroviral em adultos infectados pelo HIV. 2008. Suplemento II. Critérios para Início do Tratamento Antirretroviral. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais
146. Abordagem e Tratamento do Fumante - Consenso 2001. Rio de Janeiro: INCA, 2001. Ministério da Saúde
147. Gritz ER, Vidrine DJ, Lazev AB, Amick BC 3rd, Arduino RC .Smoking behavior in a low-income multiethnic HIV/AIDS population. *Nicotine Tob Res.* 2004; 6:71–77.
148. Stein JH, Hadigan CM, Brown TT, Chadwick E, Feinberg J, Friis-Møller N, et al. Working Group 6.Prevention strategies for cardiovascular disease in HIV-infected patients. *Circulation.* 2008; 118(2):e54-60.
149. Lima EM, Gualandro DM, Yu PC, Giuliano Ide C, Marques AC, Calderaro D, Caramelli B. Cardiovascular prevention in HIV patients: results from a successful intervention program. *Atherosclerosis.* 2009; 204(1):229-32.
150. Kaplan RC, Kingsley LA, Sharrett AR, Li X, Lazar J, Tien PC, Mack WJ et al.: Ten-year predicted coronary heart disease risk in HIV-infected men and women. *Clin Infect Dis.* 2007; 45:1074–1081.
151. Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, Shigenaga JK, Jensen P, Feingold KR. Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance, and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;74(5):1045-52

152. Baker J, Ayenew W, Quick H, Hullsiek KH, Tracy R, Henry K, et al. High-density lipoprotein particles and markers of inflammation and thrombotic activity in patients with untreated HIV infection. *J Infect Dis.* 2010; 201(2):285-92.
153. Dados brasileiros sobre colesterol. Disponível em: <http://www.cardiol.br/imprensa/jornais/defaultnew2.htm>
154. Mulligan K, Grunfeld C, Tai VW, Algren H, Pang M, Chernoff DN, et al. Hyperlipidemia and insulin resistance are induced by protease inhibitors independent of changes in body composition in patients with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2000; 23:35-43.
155. Savès M, Raffi F, Capeau J, Rozenbom W, Ragnaud JM, Perronne C, et al. Factors related to lipodystrophy and metabolic alterations in patients with human immunodeficiency virus infection receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis.* 2002; 34:1396-1405.
156. Bader MS, Kelly DV. Diagnosis and Management of Common Chronic Metabolic Complications in HIV-infected patients. *Postgrad Med.* 2008; 120(4):1-11.
157. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein JJ, et al. JUPITER Trial Study Group. Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. *Lancet.* 2009; 373(9670):1175-82.
158. Oliviero U, Bonadies G, Apuzzi V, Foggia M, Bosso G, Nappa S, et al. Human immunodeficiency virus per se exerts atherogenic effects Atherosclerosis. 2009; 204:586–589
159. Maggi P, Quirino T, Ricci E, De Socio GVL, Gadaleta A, Ingrassia F et al. Cardiovascular Risk Assessment in Antiretroviral-Naïve HIV Patients. *Aids Patient Care and STDS.* 2009, 23 (10):809-13.
160. Cooke JP. Flow, NO and atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100:768-70.
161. van Wijk JP, de Koning EJ, Cabezas MC, Joven J, op't Roodt J, Rabelink TJ et al. Functional and structural markers of atherosclerosis in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Am Coll Cardiol.* 2006; 47(6):1117-23.
162. Andrade AC, Ladeia AM, Netto EM, Mascarenhas A, Cotter B, Benson CA et al. Cross-Sectional Study of Endothelial Function in HIV-Infected Patients in Brazil. *AIDS Research and Human Retroviruses.* 2008; 24:27-33.

163. Blanco JJ, Garcia IS, Cerezo JG, de Rivera JM, Anaya PM, Raya PG et al.: Endothelial function in HIV-infected patients with low or mild cardiovascular risk. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 58(1):133–139.
164. Papasavvas E, Hsue P, Reynolds G, Pistilli M, Hancock A, Martin J et al. Increased Endothelial Precursor Cells Are Not Associated with Carotid Intima-media Thickness Progression in Chronically HIV-1-infected Subjects. Abstract # 701, presented at 17th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections (CROI) 2010 San Francisco 16-19 february.
165. Corrales-Medina VF, Simkins J, Chirinos JA, Serpa JA, Horstman LL, Jy W, Ahn YS. Increased levels of platelet microparticles in HIV-infected patients with good response to highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010; 54(2):217-8.

ABSTRACT

Introduction: After the introduction of antiretroviral therapy, aids has acquired an aspect of chronic disease and less deaths has occurred. The deaths related to aids are diminished but the proportion of deaths unrelated to aids, including cardiovascular disease are increasing, in part due to the side effects from the antiretroviral therapy.

Objectives: To quantify the number of endothelial progenitor cells (EPC) and microparticles (MP) in HIV-infected naïve patients and compared with a control group. Besides the biochemical profile we evaluated subclinical atherosclerosis through carotid intimal medial thickening and endothelial function by flow mediated dilation.

Methods: A case-control study, matched for age and gender, cross-sectional with blind analysis of the goals of biomarkers. Quantification of EPC and MP was done with flow cytometry, subclinical atherosclerosis and endothelial function by echo-Doppler with high resolution linear transducer. We included 68 subjects (35 HIV + and 33 controls) with a median age of 33 years, 80% were male and Caucasian.

Results: The lipid profile differ between the groups for total cholesterol 156 mg / dL and 173 mg / dL ($p = 0.02$) and HDL-C 37 mg / dL and 47 mg / dL ($p = 0.001$) for case and control groups, respectively. The count of the CEP was lower in HIV-infected patients compared with control CD34 + / KDR + [0.02% vs. 0.09%, $p = 0.045$], but not to CD34 + / CD133 + and KDR + / CD133 +. The average number of platelet MP was similar between the groups 24 992 per mL of plasma in HIV-infected group and 26 642 mL plasma in control ($p = 0.83$). The counting of endothelial MP / mL of plasma differed between groups, being higher in HIV-infected group compared to control (1963 vs. 436, $p = 0.003$). The measurement of intimal medial thickening was similar between groups, but was found lower flow-mediated dilation [mean (SD)] in the HIV patients [9% (5%) versus 16% (10%), $p = 0.03$].

Conclusions: HIV + patients, before HAART had lower amounts of EPC and increased endothelial MP, along with endothelial dysfunction.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)