



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

PHILIPPE QUAGLIATO BELLINATI

**ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS, ANTI-
INFLAMATÓRIOS E METABÓLICOS COM A DOENÇA CAROTÍDEA
ATEROSCLERÓTICA SUBCLÍNICA EM PACIENTES VIVENDO COM
HIV/AIDS**

PHILIPPE QUAGLIATO BELLINATI

**ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS, ANTI-
INFLAMATÓRIOS E METABÓLICOS COM A DOENÇA CAROTÍDEA
ATEROSCLERÓTICA SUBCLÍNICA EM PACIENTES VIVENDO COM
HIV/AIDS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Edna Maria Vissoci Reiche

Londrina
2019

PHILIPPE QUAGLIATO BELLINATI

**ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS, ANTI-INFLAMATÓRIOS
E METABÓLICOS COM A DOENÇA CAROTÍDEA ATEROSCLERÓTICA
SUBCLÍNICA EM PACIENTES VIVENDO COM HIV/AIDS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Edna Maria Vissoci Reiche
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. José Wander Breganó
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^ª. Dr^ª. Jaqueline Dario Capobiango
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Marcell Alysson Batisti Lozovoy
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Dr^ª. Tamires Flauzino
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 16 de agosto de 2019.

AGRADECIMENTOS

Dedico esta dissertação de mestrado à minha amada mãe Glacilda Helena Quagliato Bellinati (*in memoriam*), que partiu, contra sua vontade, ainda no início da minha graduação, sem imaginar que esse curso pudesse se concretizar.

Agradeço à Deus por me permitir concluir este trabalho.

À minha família, principalmente meu pai e à minha avó, que aguentaram firmes a distância, além do apoio das minhas tias e meus irmãos, Raphael e Gabriella.

À minha orientadora Professora Dra. Edna Maria Vissoci Reiche que muito dedicou-se em me orientar, manteve-se paciente, apaixonada pela profissão de professora e pesquisadora, sendo uma fonte de inspiração cada dia mais para minha vida acadêmica. Dedico ainda a ela, que não desistiu de mim e se fez sempre presente nesses dois anos.

À Professora Ms. Susana Lilian Wiechmann e ao Dr Jan Walter Stegmann, que cederam o Ambulatório de Moléstias Infecciosas do Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário para coleta de dados.

Ao Paulo Fernando Gasparetto Junior, que apesar de todas suas atividades como Cirurgião Vascular, se dedicou na realização dos exames.

À Dra. Tamires Flauzino e a Dra. Daniela Frizon Alfieri pela contribuição nesse processo. Principalmente a Daniela pela ajuda no final, que em pouco tempo, mostrou todo seu conhecimento, empenho e dedicação, e ainda me guiou nos momentos de insegurança.

Aos pacientes e seus familiares que aceitaram participar do estudo.

Agradeço ainda ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, do Centro de Ciências da Saúde da UEL, às Professoras Dra Eliana Carolina Vespero, Dra Márcia Regina Eches Perugini, Dra. Leda Mezzaroba, Dra. Andreia Name Colado Simão e Dra. Elaine Regina Delicato de Almeida pela oportunidade e apoio para a realização desse mestrado.

Agradeço imensamente à professora Ms. Zuleica Naomi Tano pelo incentivo durante toda a minha Residência Médica para que iniciasse esse curso, foi dessa forma que tudo se tornou possível.

1 BELLINATI, Philipe Quagliato. **Associação entre marcadores inflamatórios, anti-**
2 **inflamatórios e metabólicos com aterosclerose subclínica em pacientes vivendo com**
3 **HIV/AIDS**. 2019. 93 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial).
4 Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

7 RESUMO

10 **Introdução:** O uso da terapia antirretroviral combinada (cART) pelas pessoas infectadas pelo
11 vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) tem proporcionado maior sobrevivência destes
12 indivíduos. Com isto, são expostos aos efeitos da idade e a outros fatores de risco
13 relacionados à doença cardiovascular (DCV). A espessura da camada íntima-média da
14 carótida interna (cIMT) tem sido associada com marcadores inflamatórios. No entanto,
15 estudos da associação entre marcadores anti-inflamatórios com a cIMT são escassos e com
16 resultados conflitantes. **Objetivo:** Determinar a associação entre marcadores da resposta
17 inflamatória, anti-inflamatória e metabólica com a doença carotídea aterosclerótica
18 subclínica em um grupo de pacientes infectados pelo HIV-1. **Métodos:** Foi realizado um
19 estudo transversal em 49 pacientes com infecção pelo HIV-1 sem sintomas de doença
20 aterosclerótica estabelecida, adultos, ambos os sexos e em tratamento com cART há, pelo
21 menos, cinco anos, atendidos no Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário da
22 Universidade Estadual de Londrina (AEHU/UEL). Foram inseridos, também 85 controles. A
23 ultrassonografia *doppler* (USGD) de carótida foi realizada nos pacientes que foram,
24 posteriormente, categorizados de acordo com a cIMT ($<0,9$ ou $\geq 0,9$ mm), grau de estenose
25 ($<50,0$ ou $\geq 50,0\%$) e presença de placa ($\geq 1,5$ mm). Dados demográficos, fatores de estilo de
26 vida e história médica foram coletados pela avaliação clínica e aplicação de um questionário
27 padrão. Os marcadores avaliados foram leucócitos periféricos, níveis plasmáticos de fator de
28 necrose tumoral (TNF)- α , interleucina (IL)-6, IL-10, adiponectina, proteína C reativa com
29 método ultrasensível (usPCR), perfil lipídico, glicose, insulina e homocisteína. Além disso,
30 foram avaliadas a contagem de linfócitos T CD4⁺ e a quantificação plasmática do RNA do
31 HIV-1. As variáveis significativas obtidas no teste de análise de variância (ANOVA) entre os
32 grupos com cIMT $< 0,09$ mm *versus* $\geq 0,9$ mm foram avaliadas usando três modelos
33 diferentes de análise de regressão logística binária automática controlada por covariáveis
34 que poderiam confundir a associação de interesse. Além disso, avaliamos a cIMT em dados
35 contínuos por regressão linear em duas etapas e em 5 modelos, com os dados
36 sociodemográficos (modelo #1), a presença de comorbidades (modelo #2), metabólicas
37 (modelo #3), biomarcadores inflamatórios (modelo # 4) e dados associados à infecção pelo
38 HIV-1 (modelo #5). Posteriormente, avaliamos as variáveis significativas na primeira etapa,
39 os demais dados sociodemográficos e variáveis relacionadas ao HIV-1. Correlação de
40 Spearman foi empregada para verificar a correlação entre cIMT, biomarcadores
41 inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos e variáveis relacionadas ao HIV-1. *Odds ratio*
42 (OR) e intervalo de confiança de 95% (IC) também foram determinados. **Resultados:**
43 Pacientes com HIV-1 apresentaram níveis mais elevados de usPCR ($p=0,032$), TNF- α
44 ($p<0,001$), IL-6 ($p=0,006$), IL-10 ($p=0,003$), triglicérides ($p=0,001$) e insulina ($p<0,001$), e
45 baixos níveis de adiponectina ($p<0,001$), colesterol total ($p=0,015$) e colesterol de
46 lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) ($p=0,024$) do que os controles, após ajuste por
47 idade, sexo, etnia, circunferência abdominal e uso de hipolipemiantes. A cIMT $\geq 0,9$ mm ou

1 placa aterosclerótica nas artérias carótidas foi observada em 24 (48,9%) pacientes. Níveis
2 diminuídos de adiponectina foram independentemente associados com cIMT $\geq 0,9$ mm,
3 após ajustados por covariáveis de interesse [OR: 0,267, intervalo de confiança (IC) 95%:
4 0,089-0,801, $p=0,019$] e explicaram 18,7% dos resultados da variância da cIMT. A idade e
5 tabagismo foram positivamente associados com cIMT ($p=0,033$ e $p=0,028$, respectivamente)
6 e os níveis de adiponectina foram negativamente associados com cIMT ($p=0,008$); estas três
7 variáveis explicaram 27,3% da variância dos valores da cIMT. As variáveis cART, contagem de
8 LT CD4⁺ e a carga viral de HIV-1 não apresentaram associação com a cIMT, estenose e
9 presença de placa. Além disso, os níveis plasmáticos de adiponectina foram negativamente
10 correlacionados com cIMT ($r=-0,319$, $p=0,026$), tempo de diagnóstico do HIV-1 ($r=-0,327$,
11 $p=0,009$), leucócitos periféricos ($r=-0,442$, $p=0,002$), IL-6 ($r=-0,370$, $p=0,009$), IL-10 ($r=-0,394$,
12 $p=0,005$), triglicérides ($r=-0,564$, $p < 0,001$) e insulina ($r=-0,487$, $p < 0,001$) em pacientes
13 infectados pelo HIV-1. Ademais, a adiponectina foi correlacionada positivamente com o HDL-
14 colesterol ($r=0,573$, $p < 0,001$). **Conclusão:** Os resultados mostraram a elevada frequência de
15 aterosclerose subclínica nos pacientes com infecção pelo HIV-1, bem como a associação
16 entre os níveis reduzidos de adiponectina com a aterosclerose subclínica. Juntamente com a
17 idade e tabagismo, a diminuição de adiponectina pode contribuir para o aumento do risco
18 de DCV nestes pacientes. Portanto, os níveis de adiponectina podem ser um bom candidato
19 para a previsão de aterosclerose subclínica. É um teste de baixo custo, fácil de usar em larga
20 escala, mais acessível e pode ser útil para o manejo de pacientes com HIV-1 nos cuidados de
21 saúde pública, principalmente onde o USGD não está disponível.

22

23 **Palavras-chave:** Infecção pelo HIV. Inflamação. Aterosclerose. Artéria carótida interna.
24 Adiponectina.

1 BELLINATI, Philippe Quagliato. **Association between inflammatory, anti-inflammatory and**
2 **metabolic markers with subclinical atherosclerosis in patients living with HIV / AIDS.** 2019.
3 93 f. Dissertation (Master's degree in Clinical and Laboratory Pathophysiology). Universidade
4 Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

5 6 7 **ABSTRACT** 8 9

10 **Introduction:** The use of combination antiretroviral therapy (cART) by people infected with
11 human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) has provided longer survival for these
12 individuals. They are exposed to the effects of age and other risk factors related to
13 cardiovascular disease (CVD). Internal carotid intima-media (cIMT) thickness has been
14 associated with inflammatory markers. However, studies of the association between anti-
15 inflammatory markers with cIMT are scarce and with conflicting results. **Objective:** to
16 determine the association between inflammatory, anti-inflammatory and metabolic
17 biomarkers, as well as factors associated with HIV-1 infection, with subclinical
18 atherosclerotic carotid disease in a group of HIV-1 infected patients. **Subject and Methods:** A
19 cross-sectional study was carried out in 49 patients with HIV-1 infection on cART at least, five
20 years, without symptoms of atherosclerotic disease, attended at the Outpatient Specialized
21 of University Hospital from Universidade Estadual de Londrina (AEHU/UEL) and 85 controls.
22 The doppler ultrasonography doppler of carotid was made in the HIV-1 patients who were
23 categorized according to the cIMT (< 0.9 mm or ≥ 0.9 mm), stenosis (< 50.0 or $\geq 50.0\%$) or the
24 presence of atherosclerotic plaque ($\geq 1,5$ mm). Demographic data, lifestyle factors and
25 medical history were obtained using clinical evaluation and a standard questionnaire. The
26 biomarkers were peripheral leukocytes, plasma levels of tumor necrosis factor (TNF)- α ,
27 interleukin (IL)-6, IL-10, adiponectin, high-sensitivity C-reactive protein (hsPCR), lipid profile,
28 glucose, insulin and homocysteine. In addition, the CD4⁺ T lymphocyte count and plasma
29 HIV-1 RNA quantification were evaluated. Significant variables obtained in the analysis of
30 variance (ANOVA) tested between groups with cIMT < 0.09 mm *versus* ≥ 0.9 mm were
31 evaluated using three different binary automatic logistic regression analysis models
32 controlled by the confounder variables. In addition, we evaluated cIMT in continuous data in
33 two-step linear regression analysis and 5 models, with sociodemographic data (model # 1),
34 the presence of comorbidities (model # 2), metabolic (model # 3), inflammatory biomarkers
35 (model # 4) and data associated with HIV-1 infection (model # 5). Subsequently, we
36 evaluated the significant variables in the first stage, the other sociodemographic data and
37 variables related to HIV-1. Spearman correlation was employed to verify the correlation
38 between cIMT, inflammatory, anti-inflammatory and metabolic biomarkers and HIV-1
39 related variables. Odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) were also determined.
40 **Results:** HIV-1 patients presented higher levels of hsCRP ($p=0.032$), TNF- α ($p<0.001$), IL-6
41 ($p=0.006$), IL-10 ($p=0.003$), triglycerides ($p=0.001$), and insulin ($p<0.001$), and low levels of
42 adiponectin ($p<0.001$), total cholesterol ($p=0.015$) and low-density lipoprotein (LDL)-
43 cholesterol ($p=0.024$) than controls, after adjusted by age, sex, ethnicity, waist
44 circumference, and hypolipemiant drugs use. The cIMT ≥ 0.9 mm or atherosclerotic plaque in
45 carotid arteries was observed in 24 (48.9%) patients. The low levels of adiponectin were
46 independently associated with cIMT ≥ 0.9 mm after adjusted by the possible confounding
47 variables [OR: 0.267, 95% (CI) 0.089-0.801, $p=0.019$], and could explained 18.7% of the cIMT

1 variance results. Age ($p=0.033$) and current smoking ($p=0.028$) were positively associated
2 with cIMT, while adiponectin levels ($p=0.008$) were negatively associated with cIMT;
3 moreover, these three variables explained 27.3% of cIMT variance levels. The variables cART,
4 $CD4^+$ T cell count and HIV-1 viral load did not show association with the cIMT. Besides that,
5 plasma levels of adiponectin were negatively correlated with cIMT ($r=-0.319$, $p=0.026$), time
6 of HIV-1 diagnosis ($r=-0.327$, $p=0.009$), as well as peripheral leukocytes ($r=-0.442$, $p=0.002$), IL-
7 6 ($r=-0.370$, $p=0.009$), IL-10 ($r=-0.394$, $p=0.005$), triglycerides ($r=-0.564$, $p<0.001$), and insulin
8 ($r=-0.487$, $p<0.001$) in patients infected with HIV-1. Moreover, adiponectin was positively
9 correlated with HDL- cholesterol ($r= 0.573$, $p<0.001$). **Conclusion:** The results showed the
10 high frequency of subclinical atherosclerosis in patients with HIV-1 infection, as well as the
11 association between reduced adiponectin levels and subclinical atherosclerosis. Along with
12 age and smoking, decreased adiponectin may contribute to increased risk of CVD in these
13 patients. Therefore, adiponectin levels may be a good candidate for predicting subclinical
14 atherosclerosis. It is a cost-effective, easy-to-use, large-scale test that is more affordable and
15 may be useful for the management of HIV-1 patients in public health care, especially where
16 USGD is not available.

17

18 **Keywords:** HIV-1 infection. Inflammation. Atherosclerosis. Carotid artery internal.
19 Adiponectin.

LISTA DE FIGURAS

1		
2		
3	Figura 1 - Fases da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 e as	
4	alterações dos marcadores laboratoriais na progressão da infecção ao	
5	longo do tempo.....	17
6	Figura 2 - Taxa de detecção de aids (x 100 mil habitantes) segundo região de	
7	residência, por ano de diagnóstico, no Brasil, no período de 2007 a 2017	19
8	Figura 3 - Influência da ativação imunológica e resposta inflamatória no risco	
9	cardiovascular associado à infecção pelo vírus da imunodeficiência	
10	humana tipo 1 (HIV-1).....	22
11	Figura 4 - Mecanismos que contribuem para doença cardiovascular no indivíduo	
12	com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1)	25
13	Figura 5 - Mecanismos que contribuem para doença cardiovascular no indivíduo	
14	com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1)	27
15	Figura 6 - Demonstração das camadas íntima, média e adventícia, da artéria	
16	carótida interna, visto pelo Doppler.....	31
17	Figura 7 - Representação desenhada da árvore carotídea, com medição de placa e	
18	da espessura da íntima-média da carótida (cIMT) de acordo com o	
19	consenso de Mannheim: (1) espessura > 1,5 mm; (2) invasão do lúmen>	
20	0,5 mm; (3, 4) > 50% do valor cIMT circundante.....	32
21	Figura 8 - Possíveis mecanismos para o metabolismo da glicose mediado pela	
22	adiponectina	36
23	Figura 9 - Possíveis efeitos antiateroscleróticos da adiponectina e melhora do	
24	metabolismo lipídico e da glicose pela adiponectina	38

LISTA DE QUADROS

1

2

3 **Quadro 1** - Doenças definidoras de aids, segundo o critério do Centro de Controle e

4 Prevenção de Doenças, adaptado 16

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1		
2		
3	3TC	Lamivudina
4	ACC	Artéria carótida comum
5	ACI	Artéria carótida interna
6	AIDS	<i>Acquired immunodeficiency syndrome</i> – Síndrome da
7		imunodeficiência adquirida
8	AMPK	<i>Adenosine monophosphate-activated protein kinase</i> – proteína
9		quinase ativada por monofosfato de adenosina
10	ARV	Antirretroviral
11	ASCVD	<i>Atherosclerotic Cardiovascular Disease</i> , doença aterosclerótica
12		cardiovascular
13	AVE	Acidente vascular encefálico
14	AZT	Zidovudina
15	BMI	<i>Body Mass Index</i> – Índice de massa corpórea
16	cART	<i>Combined antiretroviral therapy</i> – Terapia antirretroviral
17		combinada
18	CCL2	Quimiocina CC ligante 2
19	CCL5	Quimiocina CC ligante 5
20	CDC	<i>Centers for Diseases Control and Prevention</i> – Centro de Controle e
21		Prevenção de Doenças
22	CI	<i>Confidence interval</i> – Intervalo de confiança
23	cIMT	<i>Carotid intima-media thickness</i> – Espessura íntima-média
24		carotídea
25	CRP	<i>C-reactive protein</i> – Proteína C reativa
26	CT	Colesterol total
27	CVD	<i>Cardiovascular disease</i> – Doença cardiovascular
28	CX3CL1	Quimiocina CXC3ligante 1
29	DAPC	Doença arterial periférica crônica
30	DBP	<i>Diastolic blood pressure</i> – Pressão sanguínea diastólica
31	DCV	Doença cardiovascular
32	DMT2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2

1	DNA	Ácido desoxirribonucleico
2	DTG	Dolutegravir
3	EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
4	EFZ	Efavirenz
5	ESR	<i>Erythrocyte sedimentation rate</i> – Velocidade de hemossedimentação
6	FRS	<i>Framingham Risk Score</i> , Escore de Risco de Framingham
7	HAART	<i>Highly active antiretroviral therapy</i> – terapia antirretroviral
8		altamente ativa
9	HBV	<i>Hepatitis B virus</i> – Vírus da hepatite B
10	HCV	<i>Hepatitis C virus</i> – Vírus da hepatite C
11	HDL-C	<i>High-density lipoprotein</i> – Lipoproteína de alta densidade
12	HIV-1	<i>Human immunodeficiency virus</i> – Vírus da imunodeficiência
13		humana tipo 1
14	HLA	<i>Human leukocyte antigen</i> – Antígeno leucocitário humano
15	hsCRP	<i>High sensitivity C-reactive protein</i> – Proteína C reativa por
16		metodologia ultrasensível
17	IAM	Infarto agudo do miocárdio
18	IC	Intervalo de confiança
19	ICAM-1	<i>Intracellular cell adhesion molecule 1</i> – Molécula de adesão
20		intracelular 1
21	IFN	<i>Interferon</i> – Interferon
22	IL	<i>Interleukin</i> – Interleucina
23	IMC	Índice de massa corpórea
24	INI	<i>Integrase inhibitor</i> – Inibidor de integrase
25	iNOS	<i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i> – óxido nítrico sintase induzível
26	IP	Inibidor de protease
27	ITRN	Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos
28	ITRNN	Inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos
29	LDL-C	<i>Low-density lipoprotein</i> – Lipoproteína de baixa densidade
30	Ln	<i>Logarithmic</i> – Logaritmo
31	LT	Linfócito T
32	MMP	<i>Matrix metalloproteinase</i> – Metaloproteinases de matriz

1	NADPH	<i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i> – fosfato de nicotinamida adenina dinucleótideo
2		
3	NF-κB	<i>Nuclear factor kappa B</i> – Fator nuclear <i>kappa B</i>
4	NO	Óxido nítrico
5	OMS	Organização Mundial da Saúde
6	ONU	Organização das Nações Unidas
7	OR	<i>Odds ratio</i> – razão de chance
8	oxLDL	<i>Oxidized low-density lipoprotein</i> – Lipoproteína de baixa densidade oxidada
9		
10	PAI-1	<i>Plasminogen activator inhibitor-1</i> , inibidor do ativador do plasminogênio
11		
12	PAS	Pressão arterial diastólica
13	PAS	Pressão arterial sistólica
14	PCDT	Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas
15	PCR	Proteína C-reativa
16	PPAR-γ	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i> – peroxissoma receptor-γ ativado por proliferador
17		
18	PVHA	Pessoas vivendo com HIV/AIDS
19	qPCR	<i>Polymerase chain reaction quantitative real time</i> – Reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa
20		
21	RNA	Ácido ribonucleico
22	ROS	<i>Reactive oxygen species</i> – espécies reativas de oxigênio
23	SBP	<i>Systolic blood pressure</i> – Pressão sanguínea sistólica
24	sCD14	marcador solúvel do CD163
25	sCD163	marcador solúvel do CD163
26	SLHIV	Síndrome lipodistrófica do HIV
27	SM	Síndrome metabólica
28	sTNFR1	receptores solúveis do TNF-α tipo 1
29	sTNFR2	receptores solúveis do TNF-α tipo 2
30	SUS	Sistema Único de Saúde
31	T2DM	<i>Type 2 diabetes mellitus</i> – Diabete <i>mellitus</i> tipo 2
32	TC	Tomografia computadorizada

1	TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
2	TDF	Tenofovir
3	TG	<i>Tryglicerides</i> – Triglicerídeos
4		tipo 1
5	TLR	<i>Toll like receptor</i> – Receptores tipo Toll
6	TNF	<i>Tumor necrosis factor</i> – Fator de necrose tumoral
7	TNFR1	Receptor de fator de necrose tumoral 1
8	TNFR2	Receptor de fator de necrose tumoral 2
9	UNAIDS	<i>Joint United Nations Programme on HIV/AIDS</i> – Programa
10		Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS
11	USGD	Ultrassonografia pelo <i>doppler</i>
12	usPCR	Proteína C reativa por metodologia ultrasensível
13	VCAM-1	<i>Vascular cell adhesion molecule 1</i> – Molécula de adesão vascular 1
14	VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i> – Fator de crescimento do
15		<i>endotélio vascular</i>
16	VHS	Velocidade de hemossedimentação
17	VLDL	<i>Very-low-density lipoprotein</i> – Lipoproteína de densidade muito
18		baixa
19	vWF	<i>Von Willebrand Factor</i> – Fator de von Willebrand

SUMÁRIO

1			
2			
3	1.	INTRODUÇÃO	15
4	1.1.	Infecção pelo HIV-1	15
5	1.2.	Epidemiologia do HIV.....	17
6	1.3.	Tratamento de Pessoas com HIV/Aids.....	19
7	1.4.	HIV-1 e Inflamação.....	21
8	1.5.	HIV-1 e Aterosclerose	26
9	1.6.	Espessura da íntima média da carótida (cIMT).....	30
10	1.7.	Espessura da íntima média da carótida (cIMT) em pacientes com HIV-1	33
11	1.8.	Marcadores Inflamatórios e Anti-inflamatórios na infecção pelo HIV-1 e a cIMT	34
12	1.8.1	Adiponectina	35
13			
14	2.	JUSTIFICATIVA	39
15			
16	3.	OBJETIVOS	41
17	3.1.	Objetivo Geral	41
18	3.2.	Objetivos Específicos.....	41
19			
20	4.	MATERIAIS E MÉTODOS	42
21			
22	5.	RESULTADOS	47
23			
24	6.	CONCLUSÃO	73
25			
26	7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	74
27			
28		REFERENCIAS	75
29		ANEXOS	83
30		ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	84
31			
32		APÊNDICES	89
33		APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	90
34		APÊNDICE 2 - QUESTIONÁRIO PARA COLETA DE DADOS DOS INDIVÍDUOS	93

1. INTRODUÇÃO

1.1. INFECÇÃO PELO HIV-1

Na década de 1990, os estudos sobre a infecção HIV-1 (vírus da imunodeficiência humana tipo 1) e síndrome de imunodeficiência adquirida (*aids*, *acquired immunodeficiency syndrome*) ajudaram a entender tanto a infecção por esse retrovírus quanto o próprio funcionamento do sistema imune dos seres humanos. O HIV-1 é um vírus de RNA fita simples que, após a invasão da célula do hospedeiro por meio da ligação em receptores e coreceptores na membrana, faz a transcrição desse material em DNA (transcrição reversa), que por sua vez, se integra ao núcleo das células-alvo. O vírus infecta massivamente linfócitos T, que apresentam em sua superfície o marcador CD4, e em menor escala macrófagos (VERONESI; FOCACCIA, 2010).

A infecção aguda pelo HIV-1 ocorre nas primeiras semanas após a exposição ao vírus quando este se replica intensivamente nos tecidos linfoides. Durante essa fase, tem-se carga viral elevada e níveis decrescentes de linfócitos, em especial os linfócitos T CD4⁺ (LT CD4⁺), uma vez que estes são recrutados para a reprodução viral. Na fase de latência clínica, enquanto a contagem de LT CD4⁺ permanece acima de 350 células/mm³, os episódios infecciosos mais frequentes são, geralmente, bacterianos. Com a progressão da infecção, aparecem as apresentações atípicas das infecções oportunistas, resposta tardia a antibioticoterapia ou reativação de infecções latentes. O aparecimento de infecções oportunistas e neoplasias características, como Sarcoma de Kaposi são critérios definidores de *aids*. Nessas situações, a contagem de LT CD4⁺ situa-se abaixo de 200 células/mm³, na maioria das vezes (BRASIL, 2018).

Para a definição de caso de *aids*, vários critérios foram propostos, implantados e redefinidos. A evolução das definições de caso de *aids* acompanha os avanços tecnológicos. Para os adultos, o principal critério de definição utilizado atualmente no Brasil é o critério do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (*Centers for Disease Control and Prevention, CDC*) adaptado, apresentado no Quadro 1.

29
30
31

Quadro 1 - Doenças definidoras de aids, segundo o critério do Centro de Controle e Prevenção de Doenças, adaptado

Doenças definidoras de aids
<p>Criptococose extrapulmonar; Câncer cervical invasivo; Candidíase esofágica, traquéia, brônquio ou pulmões; Citomegalovirose (retinite ou outros órgãos, exceto fígado, baço e linfonodos); Criptosporidiose intestinal crônica (> 1 mês); Encefalopatia pelo HIV; Herpes simples com úlceras mucocutâneas (duração > 1 mês) ou visceral de qualquer localização; Histoplasmose disseminada; Infecções disseminadas por micobactérias não <i>M. tuberculosis</i>; Isosporidiose intestinal crônica (> 1 mês); Leishmaniose atípica disseminada; Leucoencefalopatia multifocal progressiva (LEMP); Linfoma não-Hodgkin de células B; Linfoma Primário do Sistema Nervoso Central; Nefropatia ou cardiomiopatia sintomática associada ao HIV; Neurotoxoplasmose; Síndrome consumptiva associada ao HIV, associada a diarreia crônica ou fadiga crônica e febre ≥ 1 mês; Pneumonia por <i>Pneumocystis jiroveci</i>; Pneumonia bacteriana recorrente (2 ou mais episódios em 1 ano); Reativação de doença de Chagas (meningoencefalite e/ou miocardite); Sarcoma de Kaposi; Septicemia recorrente por <i>Salmonella não thyphi</i>; Tuberculose extrapulmonar.</p>

1 **Fonte:** Adaptado de: BRASIL. Protocolo Clínico de Diretrizes Terapêuticas para o Manejo de Infecção
2 pelo HIV (BRASIL, 2018). USA. CDC – *Revised Surveillance Case Definition for HIV Infection*. (USA,
3 2014).

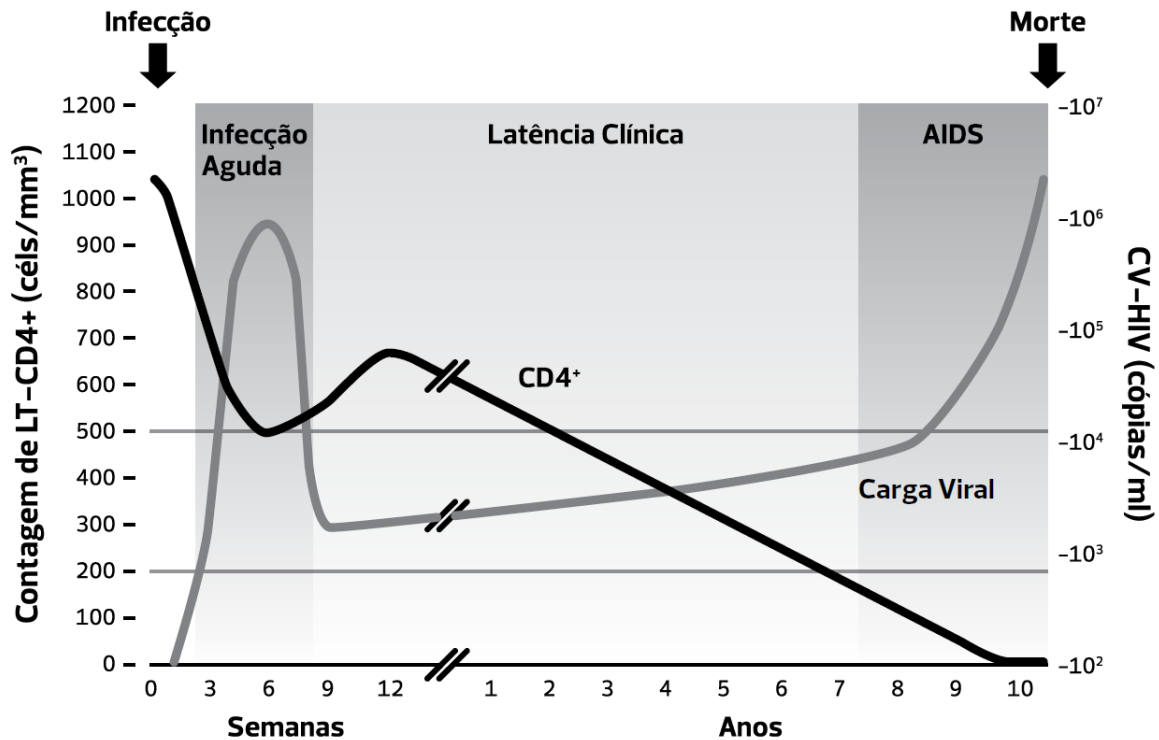
4

5

6 A depleção de LT CD4⁺ leva à desorganização da resposta imune e a maior
7 suscetibilidade a processos infecciosos e neoplásicos. Além da aids, ocorre ativação
8 inflamatória e processos degenerativos, contribuindo com o aumento de doenças
9 cardiovasculares (DCV) e cerebrovasculares nessa população (VERONESI; FOCACCIA, 2010).

1 A Figura 1 ilustra as fases da infecção pelo HIV-1 e as alterações dos marcadores
2 laboratoriais na progressão da infecção ao longo do tempo.

Figura 1 - Fases da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 e as alterações dos marcadores laboratoriais na progressão da infecção ao longo do tempo



3
4 **Fonte:** BRASIL. Protocolo Clínico de Diretrizes Terapêuticas para o Manejo de Infecção pelo HIV
5 (BRASIL, 2018).

6

7 1.2. EPIDEMIOLOGIA DO HIV

8

9 Segundo o relatório do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS (*Joint*
10 *United Nations Programme on HIV/AIDS*, UNAIDS), estima-se que em 2018 havia
11 aproximadamente 37,9 milhões de pessoas infectadas pelo HIV-1 no mundo, sendo 36,2
12 milhões de adultos. Apesar de ter reduzido 13% o número de novas infecções no período de
13 2010-2018, houve 1,7 milhões de novos casos no último ano (UNAIDS, 2019a, 2019b). Com o
14 uso da terapia antirretroviral combinada (cART, *combined antirretroviral therapy*), a
15 mortalidade por doenças oportunistas diminuiu, e assim resultou no aumento da
16 expectativa de vida que já se assemelha da população geral. Com a maior sobrevivência destes
17 indivíduos, houve mudança no perfil de morbidade e mortalidade, previamente com um

1 predominio de eventos relacionados à aids, como a reativação de infecções oportunistas,
2 superada pelos eventos não relacionados à aids (D'ETTORRE *et al.*, 2016). O aumento em
3 larga escala do uso da cART é um dos principais contribuintes para um declínio de 48% da
4 mortalidade por causas relacionadas à aids (UNAIDS, 2019a, 2019b).

5 Todos os esforços em programas de prevenção e tratamento de pessoas vivendo com
6 HIV/AIDS (PVHA) também estão reduzindo a transmissão do HIV-1. Apesar disso, o ritmo de
7 declínio de novas infecções por HIV-1, no entanto, é muito lento para alcançar, até 2020, as
8 metas da Organização das Nações Unidas (ONU), denominadas 90/90/90. As metas 90-90-90
9 propõem que 90% das PVHA saibam o seu *status* diagnóstico, que 90% das pessoas
10 diagnosticadas recebam a cART e que 90% das pessoas em uso da cART apresentem
11 supressão da carga viral (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016). Segundo modelagem
12 matemática do UNAIDS, o alcance dessas metas até 2020 permitiria ao mundo acabar com a
13 epidemia de aids em 2030, ano em que se esperaria um número de infecções 90% menor e
14 um número de mortes 80% menor que os atuais (BRASIL, 2017).

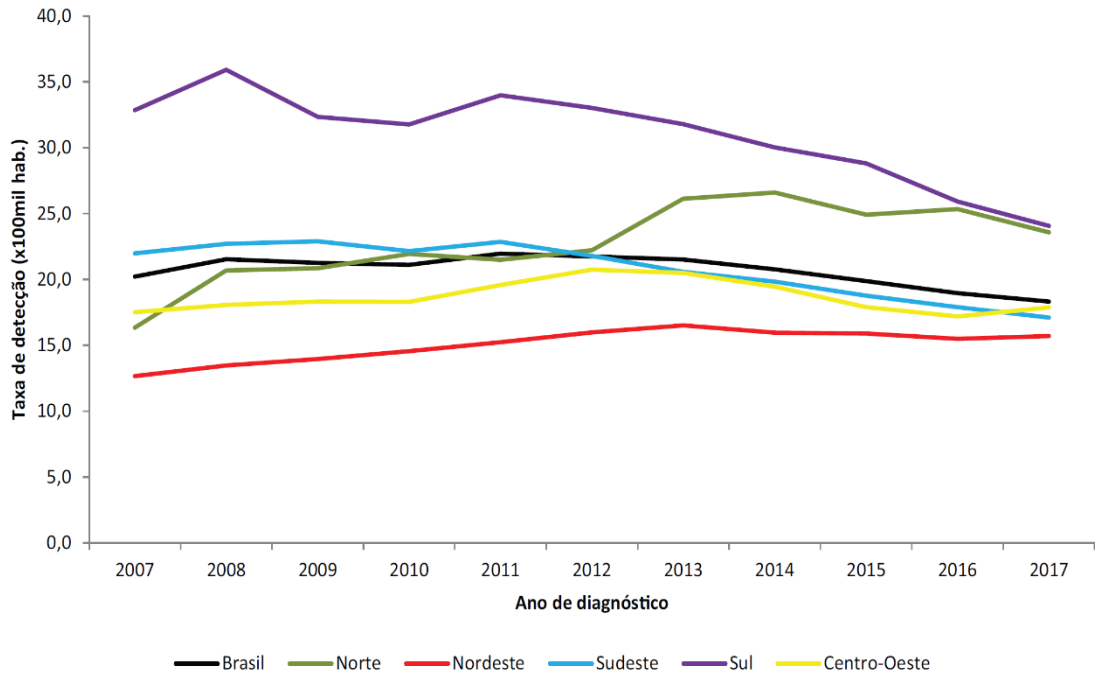
15 No Brasil, de 1980 a junho de 2018, foram identificados 926.742 casos de aids. O país
16 tem registrado, anualmente, uma média de 40 mil novos casos de aids nos últimos cinco
17 anos. Desde 2013, a taxa de detecção de aids vem caindo no país, sendo nos últimos 10
18 anos, uma queda de 9,4% (BRASIL, 2017), quando implementou-se a recomendação do
19 “tratamento para todos”, naquele ano (BRASIL, 2017). Essa política pública, alinhada com as
20 metas 90/90/90 da UNAIDS, ampliou o uso de medicamentos antirretrovirais pela população
21 infectada por HIV-1 refletindo na redução da mortalidade no mundo e no Brasil.

22 A Figura 2 demonstra a taxa de detecção de aids (x 100 mil habitantes) segundo
23 região de residência no Brasil, por ano de diagnóstico, no período de 2007 a 2017. No Brasil,
24 de 2013 para 2014, a taxa caiu 3,5%; de 2014 para 2015, a redução foi de 4,3%; de 2015 para
25 2016, de 4,6%; e de 2016 para 2017 a queda foi de 3,4%. Em um período de dez anos, a taxa
26 de detecção apresentou queda de 9,4%: em 2007, foi de 20,2 casos por 100 mil habitantes e,
27 em 2017, de 18,3 casos a cada 100 mil habitantes. Apesar da queda da taxa de detecção da
28 aids, tem-se observado aumento na taxa de detecção da infecção pelo HIV-1, provavelmente
29 pela notificação compulsória desta infecção a partir de 2014, o que impede uma análise mais
30 precisa e rigorosa (BRASIL, 2018).

31

1

Figura 2 - Taxa de detecção de aids (x 100 mil habitantes) segundo região de residência, por ano de diagnóstico, no Brasil, no período de 2007 a 2017



2

3

Fonte: BRASIL. Boletim Epidemiológico HIV AIDS 2018 (BRASIL, 2018).

4

5 **1.3. TRATAMENTO DE PESSOAS COM HIV/AIDS**

6

7

O tratamento da infecção pelo HIV-1 com a terapia antirretroviral (ARV) melhorou significativamente o prognóstico e a expectativa de vida desses pacientes. Inicialmente, as PVHA foram tratadas com monoterapia, seguida de terapia dupla com os inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN), preferencialmente zidovudina (AZT) e lamivudina (3TC). No Brasil, uma das primeiras recomendações foi em 1996/97, seguida de um novo guia em 1999 (BRASIL, 1997, 1998). O surgimento de novas classes de ARVs, os inibidores de protease (IP), aumentou as opções de tratamento. Introduziu-se essa classe de ARV e inaugurou-se, então, a terapia antirretroviral de alta potência (HAART, *highly active antirretroviral therapy*), com a combinação de três ou mais medicamentos. Nesse mesmo ano, o primeiro consenso para ARV regulamentou a prescrição no Brasil (BRASIL, 1998), sendo adotado o esquema tríplice, que combinava dois ITRN e um IP (CUNNINGHAM *et al.*, 2000) e, assim, inaugurava a cART. Na ocasião, ela tornou-se um meio de restauração da

18

1 imunidade, manutenção e recuperação da saúde de uma doença progressiva e fatal,
2 tornando a infecção pelo HIV-1 uma doença crônica complexa.

3 Com a atualização dos protocolos de tratamento, em 2008, optou-se por iniciar um
4 inibidor da transcriptase reversa não nucleosídeo (ITRNN), preferencialmente o efavirenz
5 (EFZ), no lugar de IP, associado à dupla de ITRN como terapia inicial. A utilização desse
6 esquema farmacológico levou à inibição da replicação do HIV-1 e diminuição da carga viral
7 para níveis indetectáveis e com menores efeitos adversos metabólicos como resistência
8 insulínica e dislipidemia associados aos IP (BRASIL, 2008).

9 O Protocolo Clínico de Diretrizes Terapêuticas para o Manejo de Infecção pelo HIV
10 (PCDT), obedecia às recomendações do Ministério da Saúde do Brasil de acordo com as
11 orientações da Organização Mundial da Saúde (OMS). Esse protocolo foi reformulado em
12 2013, quando houve nova alteração no PCDT. O esquema preferencial de primeira linha de
13 terapia antirretroviral tenofovir (TDF) + 3TC + EFZ, passou a ser fabricado coformulado,
14 sendo conhecido como dose fixa combinada, quando se indicou cART para todos,
15 independente da contagem de LT CD4⁺, comorbidades ou carga viral (BRASIL, 2004, 2008,
16 2013; 2018).

17 Desde fevereiro de 2017, a nova proposta de tratamento inclui combinações de três
18 ARV, sendo o esquema preferencial: 3TC e TDF com dolutegravir (DTG), um inibidor da
19 integrase (INI). Exceção a esse esquema deve ser observada para os casos de coinfeção com
20 tuberculose, mulheres vivendo com HIV/aids com possibilidade de engravidar e gestantes;
21 além de outras situações especiais como intolerância ou contraindicação (BRASIL, 2018).

22 Para a OMS, esse novo protocolo é o mais indicado para o tratamento de HIV/AIDS e
23 o Brasil adotou essa estratégia como forma de oferecer maior eficiência no tratamento com
24 envolvimento do Sistema Único de Saúde (SUS). Atualmente, a terapia inicial é
25 individualizada e depende do país, do protocolo em vigência e dos (ARV) disponíveis (U.S.
26 DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2019).

27 A adesão ao tratamento da infecção pelo HIV-1 e a boa resposta à terapia são fatores
28 que contribuem para o aumento da expectativa de vida e ao melhor prognóstico. Com o
29 aumento da sobrevivência destes indivíduos, eles são expostos a fatores intrínsecos (como
30 idade) e extrínsecos (como exposição ao tabagismo) que aumentam o risco de obesidade,
31 diabetes *mellitus* tipo 2 (DMT2) e DCV. Atualmente, a DCV tornou-se uma das principais

1 causas de morbimortalidade em PVHA, como na população geral (HSUE *et al.*, 2012;
2 D'ABRAMO *et al.*, 2014).

3 A cART apresenta inúmeros efeitos adversos bem tolerados em curto prazo (RACHID;
4 SCHECHTER, 2008). Entretanto, a cART pode induzir complicações metabólicas graves, tais
5 como resistência à insulina, síndrome metabólica (SM), lipodistrofia e DCV. Os efeitos
6 metabólicos da cART no aumento do risco de aterosclerose precoce e acelerada, em
7 pacientes infectados por HIV-1, já são bem reconhecidos (GUIMARÃES *et al.*, 2007). Estudos
8 demonstram que o uso prolongado dos ARVs está associado com a síndrome lipodistrófica
9 do HIV (SLHIV), que inclui dislipidemia, alteração glicêmica, DCV, resistência à insulina e
10 lipodistrofia (VALENTE *et al.*, 2006).

11

12 **1.4. HIV-1 E INFLAMAÇÃO**

13

14 A inflamação é um dos fatores de risco para a DCV e a infecção pelo HIV-1 não
15 tratada é um exemplo de inflamação crônica que pode ocasionar aterosclerose e alterações
16 metabólicas que aumentam o risco de DCV (ADEYEMI *et al.*, 2008; KOTLER, 2008). Portanto,
17 a infecção pelo HIV-1, por si só, é um fator de risco para DCV (ADEYEMI *et al.*, 2008). No
18 entanto, tanto na população em geral como em pacientes com HIV-1, a DCV é um processo
19 multifatorial, no qual incluem os fármacos ARVs, fatores genéticos, ambientais e o próprio
20 HIV-1 (VACHIAT *et al.*, 2017).

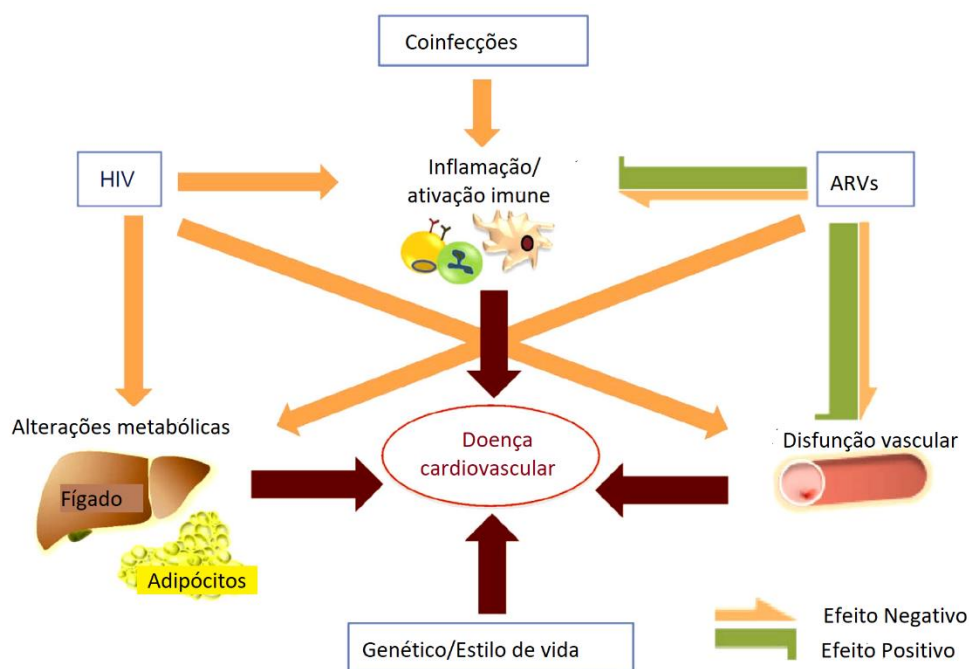
21 A infecção não controlada pelo HIV-1 pode ter uma influência maior sobre as DCV do
22 que a cART, aumentando o risco cardiovascular por vários mecanismos: 1) inflamação
23 persistente e ativação imune; 2) dano endotelial; 3) aumento da atividade trombótica; 4)
24 maior estresse oxidativo; e 5) distúrbios metabólicos indiretos [(THE STRATEGIES FOR
25 MANAGEMENT OF ANTIRETROVIRAL THERAPY (SMART) STUDY GROUP *et al.*, 2006)]. A
26 infecção pelo HIV-1 leva à ativação de várias vias inflamatórias, causando a liberação de
27 citocinas e a expressão de moléculas de adesão endotelial que facilitam a adesão e a
28 migração de leucócitos. Existe uma estreita relação entre a disfunção endotelial e a ativação
29 imune. Várias citocinas induzem ativação endotelial e alteram sua funcionalidade. Além
30 disso, o HIV-1 produz danos diretos nas células endoteliais, aumentando a permeabilidade
31 endotelial, favorecendo a apoptose e aumentando a expressão de moléculas de adesão,

1 como a E-selectina, molécula de adesão vascular 1 (VCAM-1) e molécula de adesão
 2 intracelular 1 (ICAM-1) (BELTRÁN *et al.*, 2015). A infecção pelo HIV-1, também, é
 3 acompanhada de ativação imune determinada pela elevação de vários marcadores de
 4 ativação em monócitos e macrófagos e uma proporção aumentada de linfócitos T CD8
 5 positivos ativados para o antígeno leucocitário humano (*human leukocyte antigen*, HLA)
 6 HLA-DR⁺ CD38⁺ (MARTIN *et al.*, 2013).

7 A Figura 3 sumariza a influência da ativação da resposta imune inflamatória no risco
 8 de DCV associado à infecção pelo HIV-1.

9
 10

Figura 3 - Influência da ativação imunológica e resposta inflamatória no risco cardiovascular associado à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1)



11

12 HIV: vírus da imunodeficiência humana; ARVs: antirretrovirais.

13 **Fonte:** Adaptado de Béltran *et al.* (2015).

14

15

16 A infecção pelo HIV-1 *per se* pode causar anormalidades no perfil lipídico, incluindo
 17 elevação dos triglicerídeos (TG) e diminuição da fração lipoprotéica do colesterol de alta
 18 densidade (HDL-C) (GRUNFELDT *et al.*, 1992), cujas alterações correlacionam-se com o grau
 19 de imunossupressão (KHIANGTE *et al.*, 2007), além da elevação da pressão sanguínea

1 (RACHID *et al.*, 2008; BONFANTI *et al.*, 2010).

2 As citocinas contribuem como um dos mecanismos de modulação das desordens
3 lipídicas em pacientes com HIV-1 virgens de tratamento. Sabe-se da associação entre os
4 níveis plasmáticos de TG e interferon (IFN) γ circulante em PVHA, e que esse marcador
5 aumentaria os níveis de TG pela diminuição do *clearance* de TG assim como pelo aumento
6 da lipogênese hepática e da síntese de lipoproteína do colesterol de densidade muito baixa
7 (VLDL-C) (GRUNFELDT *et al.*, 1992).

8 Vários fatores contribuem para a elevada prevalência de alterações metabólicas
9 observada em PVHA, tais como história familiar de dislipidemia, tempo e ao tipo de cART
10 utilizada, em especial os IP (FARHI; DE LIMA; CUNHA, 2008).

11 A dislipidemia está sendo frequentemente observada em pacientes infectados pelo
12 HIV-1 em uso de cART, demonstrada pelas mudanças no perfil lipídico com aumento das
13 concentrações de colesterol total, lipoproteína do colesterol de baixa densidade (LDL-C), TG
14 e diminuição de HDL-C, constituindo um perfil lipídico altamente aterogênico (VALENTE *et*
15 *al.*, 2006). A patogênese da dislipidemia na infecção pelo HIV-1 é complexa e envolve fatores
16 relacionados ao vírus, ao hospedeiro e à terapia antirretroviral, uma vez que nem todos os
17 pacientes em uso da cART apresentam distúrbios metabólicos (OH; HEGELE, 2007). Desta
18 maneira, a infecção pelo HIV-1 e o tratamento com cART são associadas ao aceleração da
19 aterosclerose e aumento do número de casos de infarto agudo do miocárdio (IAM)
20 (ESTRADA; PORTILLA, 2011).

21 Uma grande variedade de doenças crônicas apresenta o estresse oxidativo e
22 nitrosativo como parte da patogênese, incluindo a infecção pelo HIV-1. Acredita-se que
23 ocorrência do estresse oxidativo em pacientes infectados pelo HIV-1 resulta na progressão
24 da doença, assim como no desenvolvimento de doenças secundárias, tais como DCV,
25 resistência à insulina e SM. A combinação de hiperlipidemia, resistência à insulina e acúmulo
26 de gordura visceral se assemelha à SM e levanta a preocupação de que pacientes infectados
27 pelo HIV-1 em tratamento estão mais susceptíveis de desenvolver DCV e DMT2 (KOTLER *et*
28 *al.*, 1999; GOUGEON *et al.*, 2004; VALENTE *et al.*, 2006; VAN WIJK; CABEZAS, 2012;
29 INDUMATI *et al.*, 2014).

30 A cART suprime a replicação viral abaixo do limite de detecção no plasma, promove a
31 recuperação e estabilidade da contagem de LT CD4⁺ e diminui a inflamação e ativação da
32 resposta imune. No entanto, a replicação viral persiste, provavelmente dentro dos órgãos

1 linfoides e, esse nível indetectável de replicação viral contribui, em parte, para o aumento
2 dos níveis inflamatórios em PVHA tratados com cART (ECKARD *et al.*, 2016).

3 Há uma interação complexa de vários fatores, dentre eles, o HIV-1 e cART
4 apresentam efeitos diretos no tecido adiposo e função hepática com dislipidemia
5 subsequente, lipodistrofia e resistência à insulina. Outro impacto direto inclui efeitos sobre
6 as células endoteliais e células do músculo liso vascular que conduzem a disfunção endotelial
7 vascular e hipertensão arterial sistêmica (HAS) com subsequente aterosclerose e IAM. A
8 ativação imune contínua e a replicação viral podem levar a uma ativação permanente de LT
9 que também pode ser afetada por uma reativação de outros vírus. A terapia cART e o HIV-1
10 podem, também, estimular um estado crônico de inflamação e ter uma complexa interação
11 com fatores de coagulação (ECKARD *et al.*, 2016).

12 Com a ativação imune persistente, ocorre alteração permanente da imunidade da
13 mucosa intestinal que permite a translocação bacteriana, cujas próprias bactérias e seus
14 produtos circulantes no plasma promovem aumento dos marcadores inflamatórios. A
15 ativação imune persistente, apesar da viremia controlada, se deve pela imunidade inata com
16 ativação de macrófagos e células dendríticas, citocinas como o fator de necrose tumoral
17 (TNF)- α , interleucina (IL)-1, IL-6, IL-8, IL-10 e IL-15, quimiocinas, proteínas de fase aguda
18 como proteína amiloide sérica A, proteína C reativa (PCR), elementos da cascata de
19 coagulação, tais como D-dímero e fator tecidual, elementos de fibrose com a ativação das
20 enzimas matriz metaloproteinases (MMPs) e deposição de colagenase, além dos sensores
21 microbianos como as proteínas ligadoras de lipopolissacarídeos e CD14 solúvel. E na
22 imunidade adaptativa, ocorre aumento do *turnover* e exaustão de LT (DOUEK, 2013).

23 Adultos africanos infectados pelo HIV-1 em supressão virológica após início da ARV
24 apresentam biomarcadores consistentes com maior disfunção endotelial quando
25 comparados aos controles não infectados, em que a disfunção endotelial estava associada à
26 forma solúvel do marcador CD163 (sCD163), mas não à IL-6 ou com espessura da íntima
27 média da carótida (cIMT, *carotid intima media thickness*). Esta evidência de disfunção
28 endotelial em curso, apesar da supressão viral, entre pacientes infectados pelo HIV-1
29 quando em comparação com controles indica a presença de disfunção endotelial antes do
30 início da ARV e que persiste após a iniciação da mesma (DE GAETANO DONATI *et al.*, 2004;
31 MOSEPELE *et al.*, 2018). Outros marcadores como ICAM-1 e VCAM-1 persistem com níveis
32 elevados mesmo após a supressão viral, que corroboram o forte efeito do HIV-1 na

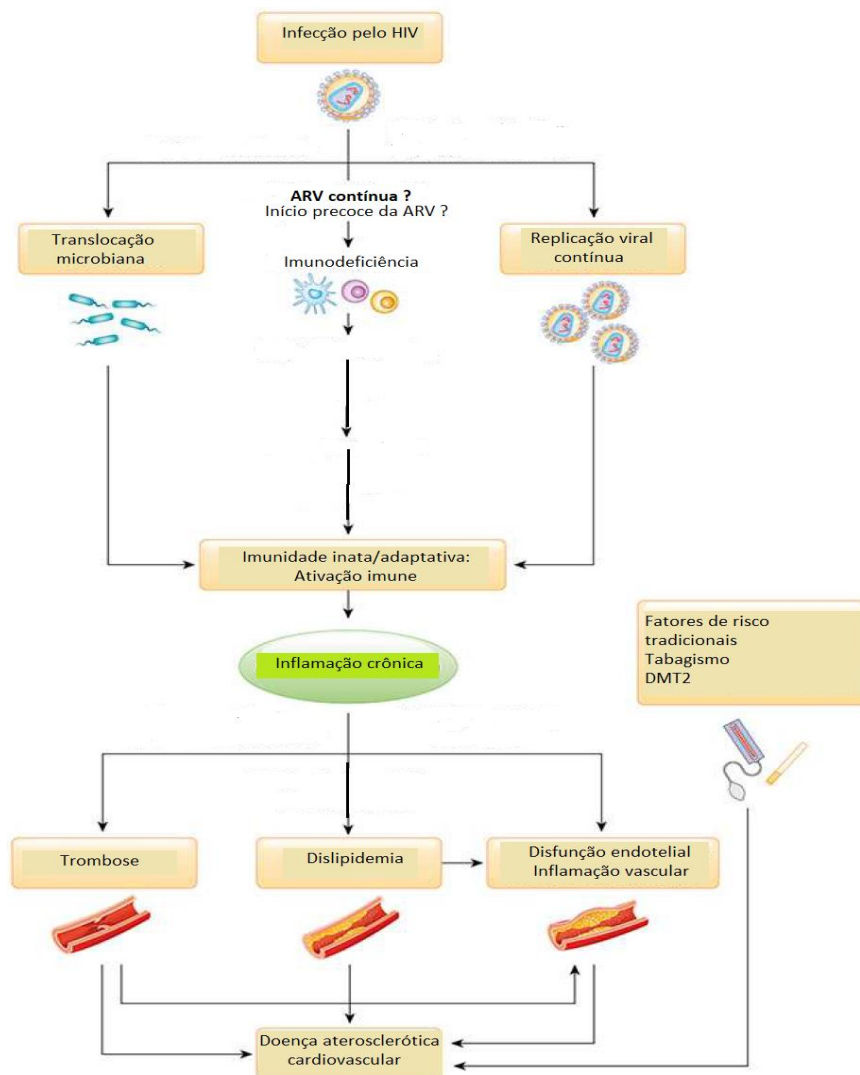
1 disfunção endotelial, mesmo após prolongada supressão e controle de múltiplos fatores de
2 risco tradicionais de DCV e o uso de estatina (MOSEPELE *et al.*, 2018).

3 A Figura 4 resume os mecanismos da aterosclerose associada à infecção pelo HIV-1, a
4 maioria dos quais interagem e amplificam outras vias na aterosclerose “comum”. A
5 aterosclerose que se desenvolve em PVHA compartilha importantes semelhanças com
6 aterosclerose em pessoas não infectadas por este vírus.

7

8

Figura 4 - Mecanismos que contribuem para doença cardiovascular no indivíduo com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1)



9

10 HIV: vírus da imunodeficiência humana; ARV: antirretroviral; DMT2: diabetes mellitus tipo 2

11 **Fonte:** Adaptado de HSUE *et al.*, (2019).

12

1.5. HIV-1 E ATEROSCLEROSE

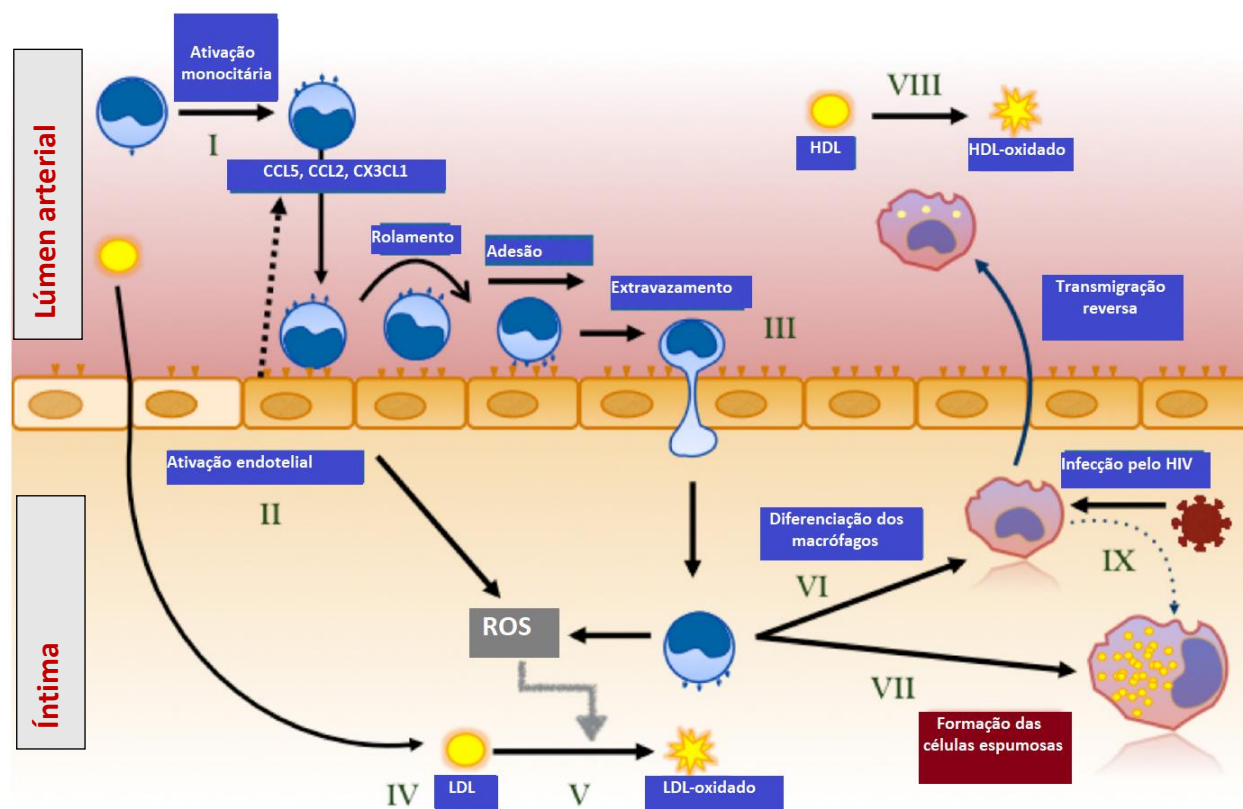
A aterosclerose é um processo inflamatório multifatorial, crônico e progressivo que promove alteração nas paredes dos vasos sanguíneos, caracterizada pelo acúmulo de macrófagos, monócitos, células espumosas e linfócitos além da deposição de lipídios oxidados nas artérias de grande e médio tamanho (PICONI *et al.*, 2013; WILLIG; OVERTON, 2014; HANNA *et al.*, 2015). Essa alteração que provoca a formação das placas e, posteriormente, a DCV, é um processo patológico envolvido no IAM, AVE e doença arterial periférica crônica (DAPC). A progressão da aterosclerose ocorre mais rapidamente em pacientes infectados pelo HIV-1 do que em indivíduos controles, mesmo em pacientes com viremia controlada (HSUE *et al.*, 2012). Apesar dos fatores de risco tradicionais para DCV serem mais prevalentes em PVHA, como HAS, tabagismo, dislipidemia e DMT2 (NOU *et al.*, 2016), existem outros mecanismos relacionados pela própria infecção pelo HIV-1 e pelo uso da cART (BAKER *et al.*, 2011; HSUE *et al.*, 2012; LONGENECKER; HOIT, 2012).

Monócitos e macrófagos desempenham um papel central na gênese e no desenvolvimento da aterosclerose, como demonstrado na Figura 5. Assim, nas placas ateroscleróticas, os macrófagos fagocitam as lipoproteínas modificadas, promovem a secreção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas e mediam o efluxo de colesterol da parede arterial. A infecção pelo HIV-1 aumenta a proporção de monócitos CD14⁺/CD16⁺, pois estes monócitos CD14⁺ exibem um fenótipo ativado com aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias (BELTRÁN *et al.*, 2015).

Inflamação e a ativação imunológica também estão associadas ao aumento da atividade trombótica, com a elevação de biomarcadores do sistema de coagulação/fibrinólise, como dímero D (um produto de degradação da fibrina), fator de von Willebrand (vWF, *Von Willebrand Factor*) e fibrinogênio (FUNDERBURG, 2014).

1 **Figura 5** - Mecanismos que contribuem para doença cardiovascular no indivíduo com infecção pelo
 2 vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1)

3



4

5 HIV: vírus da imunodeficiência humana; ROS: espécies reativas de oxigênio (*reactive oxygen species*);
 6 HDL: lipoproteína de alta densidade (*high-density lipoprotein*); LDL: lipoproteína de baixa densidade
 7 (*low-density lipoprotein*)

8 **Fonte:** Adaptado de JAWOROWSKI *et al.*, (2019).

9

10

11 A resposta imune persistentemente ativada resulta na inflamação crônica, que
 12 associada ao envelhecimento precoce do sistema imune, a imunossenescência, promovem o
 13 início e o desenvolvimento da aterosclerose (D'ABRAMO *et al.*, 2014).

14 Além da resposta imune, o estresse oxidativo, que está relacionado com a inflamação
 15 e com o aparecimento de lesões ateroscleróticas precoces e marcadores do estresse
 16 oxidativo são fatores de risco independentes na população geral. PVHA apresentam níveis
 17 mais elevados de lipoproteína de baixa-densidade oxidada (oxLDL, *oxidized low-density*

1 *lipoprotein*) e esta relaciona-se com aterosclerose subclínica na infecção pelo HIV-1
2 (HILEMAN *et al.*, 2016).

3 A cIMT, avaliada pelo modo-B da ultrassonografia da carótida por *doppler* (USGD), é
4 um método não invasivo e barato, que não submete o paciente a radiação e facilmente
5 reproduzível, que pode avaliar a presença de aterosclerose subclínica (LONGENECKER; HOIT,
6 2012; NEZU *et al.*, 2016). Sabe-se que a cIMT está associada a outras doenças crônicas como
7 Artrite Reumatóide, Arterite de Takayasu e infecções crônicas, e a vários fatores como
8 envelhecimento, alterações vasculares e prevalência de DCV (KUMEDA *et al.*, 2002;
9 LEINONEN; SAIKKU, 2002; NUMANO *et al.*, 2006; PAPITA *et al.*, 2011; D'ABRAMO *et al.*,
10 2014).

11 Lesões ateroscleróticas predominam em áreas de baixa tensão de cisalhamento que
12 geralmente dependem do fluxo sanguíneo como a bifurcação das carótidas. Esse processo
13 promove aterosclerose por vários mecanismos como o comprometimento da função
14 endotelial, aumento da absorção endotelial de LDL-C e aumento da trombogenicidade da
15 placa (BAKER *et al.*, 2011; HSUE *et al.*, 2012; D'ABRAMO *et al.*, 2014). Dessa forma, PVHA,
16 em tratamento ou não, apresentam progressão mais rápida da aterosclerose medidas por
17 cIMT. No entanto, alguns resultados tem sido conflitantes (PACHECO *et al.*, 2016) e
18 necessitam ser melhor investigados.

19 Um estudo prévio revelou que a infecção pelo HIV-1 promove um aumento de 1,5 a 2
20 vezes no risco de morte por IAM que permanece após controle dos fatores de risco
21 tradicionais para DCV (WILLIG; OVERTON, 2014) . A viremia do HIV-1 em curso é um fator de
22 risco para aterosclerose progressiva. Pacientes que permanecem em cARV contínua (ou seja,
23 virologicamente suprimidos) apresentavam redução acentuada em desfechos
24 cardiovasculares do que aos pacientes que interromperam o tratamento (DURAND *et al.*,
25 2011). A viremia não controlada é independentemente associada com aterosclerose
26 progressiva (BAKER *et al.*, 2011). Entretanto, mesmo com viremia controlada, a DCV
27 permanece elevada na população com HIV-1, embora estudos avaliando a cART demonstrem
28 consistentemente um efeito benéfico da cART nos marcadores de aterosclerose (TORRIANI
29 *et al.*, 2008).

30 Indivíduos infectados pelo HIV-1 apresentam, também, maior prevalência de fatores
31 de risco tradicionais de DCV associados com inflamação, como uso de tabaco, substâncias de
32 abuso, dislipidemia (TRIANI *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2012). A aterosclerose é um processo

1 inflamatório com acúmulo de macrófagos ativados, depósito de lipídios oxidados e
2 formação de placa que contribuem para o IAM e acidente vascular encefálico (AVE)
3 isquêmico (KITAGAWA *et al.*, 2009).

4 Pacientes com infecção pelo HIV-1 têm taxas mais altas de DCV aterosclerótica do
5 que a população geral (CURRIER, 2008) e apresentam mais eventos cardiovasculares clínicos,
6 como doença coronariana e doença arterial periférica (CURRIER *et al.*, 2003; TRIANT *et al.*,
7 2007; ISLAM *et al.*, 2012), e dano cardiovascular subclínico como aumento da cIMT,
8 calcificação coronariana, isquemia miocárdica silenciosa ou disfunção endotelial. Além disso,
9 a incidência de AVE isquêmico na população infectada pelo HIV-1 é consideravelmente alta,
10 particularmente em adultos jovens (CHOW *et al.*, 2012; SICO *et al.*, 2015). Por outro lado, a
11 idade média da população com HIV-1 está aumentando devido à eficácia da cART, com
12 aumento da expectativa de vida, favorecendo o desenvolvimento de comorbidades
13 associadas à idade, muitas das quais relacionadas à DCV, como DMT2, HAS e doença renal
14 crônica.

15 Além do envelhecimento cronológico, acredita-se que os pacientes com HIV-1
16 vivenciam o envelhecimento biológico acelerado, contribuindo para o desenvolvimento
17 precoce de comorbidades relacionadas à idade (DEEKS; PHILLIPS, 2009). Os pacientes com
18 infecção pelo HIV-1 têm maior prevalência de comorbidades não infecciosas comumente
19 observadas em idosos, como DMT2, DCV, osteoporose e doença renal crônica (GUARALDI *et*
20 *al.*, 2011). Observa-se uma mudança nos padrões de morbimortalidade entre indivíduos
21 infectados pelo HIV-1, com predomínio de comorbidade não relacionadas à aids, em que a
22 DCV desempenha um papel central.

23 Um estudo de meta-análise recente, que avaliou a taxa de DCV na população global
24 com HIV-1, estimou que a taxa de DCV foi 60 por 10.000 pessoas/ano, comparável a outros
25 grupos de alto risco cardiovasculares, como DMT2. Além disso, PVHA tinham risco de DCV
26 duas vezes maior, com maior impacto observado na África Subsaariana. A carga global de
27 DCV atribuíveis à infecção pelo HIV-1 triplicou nas últimas décadas, principalmente em
28 países de baixa renda, resultado do aumento na prevalência do HIV-1, morbidade e
29 mortalidade da DCV. A prevalência do HIV-1 varia por região, sendo maior na África
30 Subsaariana e na Ásia. A DCV é responsável por mais de 10% mortalidade nessa região, com
31 taxas comparáveis aos países desenvolvidos. Conseqüentemente, a região Subsaariana
32 responde por metade dos anos de vida perdidos por incapacidade devido à DCV atribuível ao

1 HIV-1. E a estratificação de risco e identificação de pacientes em alto risco de DCV são
2 desafiadoras, uma vez que os escores de risco apresentam um desempenho ruim, pois
3 subestimam o risco na população infectada (SHAH *et al.*, 2018; FEINSTEIN *et al.*, 2019).

5 **1.6. ESPESSURA DA ÍNTIMA MÉDIA DA CARÓTIDA (CIMT)**

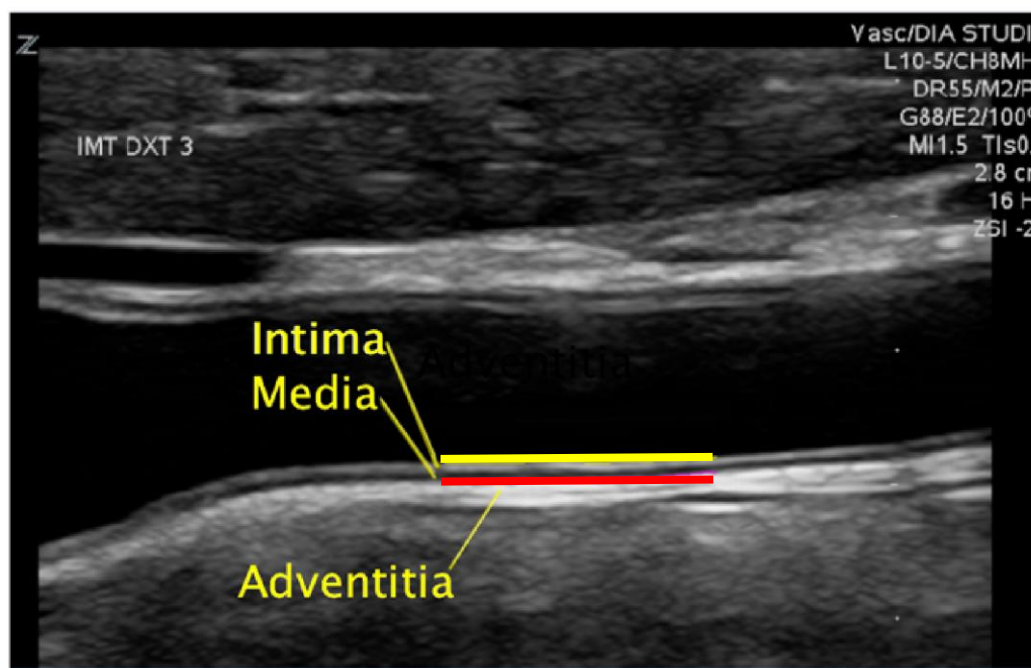
6
7 A medida das camadas íntima e média da artéria carótida comum, conforme
8 determinado pela USGD modo B de alta resolução, é reconhecida como uma ferramenta útil
9 para a identificação precoce da aterosclerose sistêmica (LORENZ *et al.*, 2007a, 2012; POLAK;
10 O'LEARY, 2016; SANTOS; DOS SANTOS NETO; SANTOS, 2018). A avaliação da CIMT é um
11 método simples, viável e econômico para avaliar a aterosclerose sistêmica e o risco
12 cardiovascular em adultos (BALDASSARRE *et al.*, 2000). Sua espessura é um fenótipo
13 intermediário de aterosclerose precoce, cujas medidas ultrassônicas correlacionam-se bem
14 com as histológicas (PIGNOLI *et al.*, 1986).

15 A avaliação da CIMT pode identificar indivíduos com risco de eventos
16 cardiovasculares futuros (STEIN *et al.*, 2013; POLAK; O'LEARY, 2016). Medidas aumentadas
17 são associadas a fatores de risco vasculares (CHAMBLESS *et al.*, 1997) e a presença de
18 aterosclerose mais avançada, incluindo doença arterial coronariana (ROSVALL *et al.*, 2005;
19 LORENZ *et al.*, 2007b). Na ausência de placa aterosclerótica, o exame de USGD exibe a
20 parede vascular como um padrão regular que se correlaciona com as camadas anatômicas. A
21 porção íntima-média desse padrão é representada pela área de tecido que começa na borda
22 luminal da artéria e termina na fronteira entre a média e a adventícia. Com o aumento da
23 idade, esse padrão mostrou espessar de maneira uniforme em segmentos arteriais retos.
24 Espessamento da íntima-média é acelerado e aumentado na presença de fatores de risco de
25 aterosclerose. Fases posteriores da aterosclerose (placa, estenose, oclusão) também podem
26 ser identificadas por exames de USGD, na ausência ou coincidentes do aumento da CIMT.

27 Na caracterização pela USGD nota-se: 1) CIMT é um padrão de dupla linha paralela,
28 que consiste nas bordas principais de dois limites anatômicos: as interfaces lúmen-íntima e
29 media-adventícia (caracterizado na Figura 6), 2) a placa é uma estrutura focal que invade o
30 lúmen arterial de pelo menos 0,5 mm ou 50% do valor de CIMT circundante, ou demonstra

- 1 uma espessura de 1,5 mm como medido da interface média-adventícia para a interface
2 íntimo-luminal (TOUBOUL *et al.*, 2012).

Figura 6 - Demonstração das camadas íntima, média e adventícia da artéria carótida interna ao exame de ultrassonografia pelo *Doppler*



- 3
4 A espessura da íntima-média da carótida (cIMT) medida pelo padrão de dupla linha paralela, ao
5 longo de 10 mm de comprimento de um segmento arterial retilíneo. A linha amarela representa a
6 camada íntima média e a linha vermelha representa a camada adventícia.

7 **Fonte:** Adaptado de Gaarder *et al.* (2015).

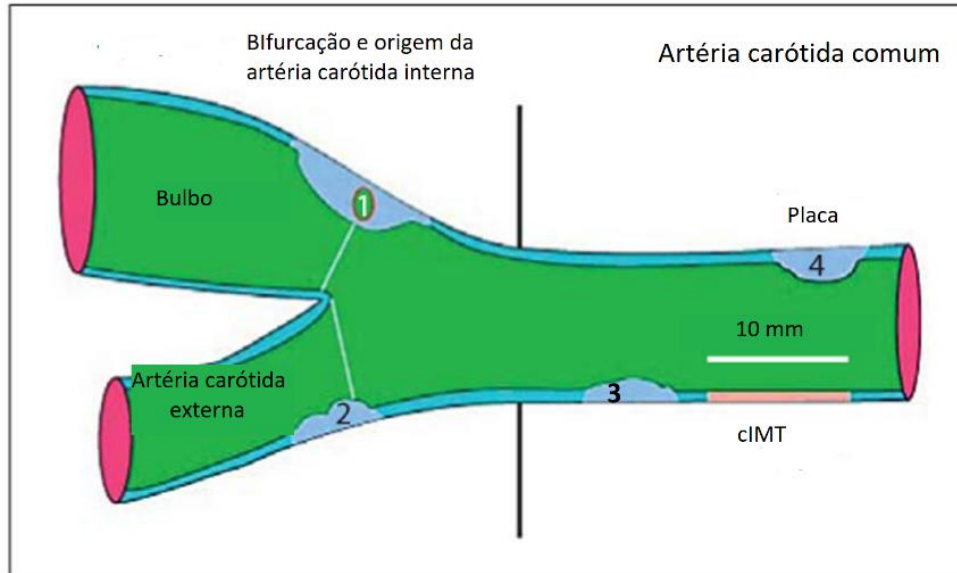
8

9

- 10 Como representado na Figura 7, a medida da cIMT é realizada dentro de uma região
11 livre de placa, em linha dupla claramente identificada. 1) A cIMT deve ser medida
12 preferencialmente na parede oposta da artéria carótida comum (ACC) a, pelo menos, 5 mm
13 abaixo de sua extremidade. 2) A cIMT pode ser medida na bifurcação carotídea ou no bulbo
14 da artéria carótida interna (ACI) em uma região livre de placa. 3) Ao longo de 10 mm de
15 comprimento de um segmento arterial reto, é necessária uma aquisição de imagem de alta
16 qualidade para medições seriadas reproduzíveis. Em caso de tortuosidade do vaso, as
17 medidas de cIMT só são possíveis em um segmento de vaso mais curto, especialmente na
18 bifurcação carotídea ou no bulbo da ACI. 4) Para placa: espessura máxima requer
19 demonstração de dois ângulos diferentes, em vistas longitudinais e transversais.

1
2
3

Figura 7 - Representação esquematizada da árvore carotídea



4

Medição de placa e da espessura da íntima-media da carótida (cIMT) de acordo com o consenso de Mannheim. Em (1) espessura > 1,5 mm; (2) invasão do lúmen > 0,5 mm; (3, 4) > 50% do valor cIMT circundante.

5 **Fonte:** Adaptado de: *Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus* (2004–2006–
6 2011).

7

8

9

A relação entre cIMT e eventos cardiovasculares é contínua, e determinar um limiar para alto risco CV é bastante estudado. Embora um cIMT > 0,9 mm tenha sido considerado alterado, e correlaciona-se com anormalidades existentes (MANCIA *et al.*, 2013; GUPTA *et al.*, 2018; WILLIAMS *et al.*, 2018), seu limite superior varia com a idade. Pode-se classificar a cIMT como IMT < 0,9 mm, sendo valores considerados valores normais, e cIMT patológico como IMT ≥ 0,9 mm (D'ABRAMO *et al.*, 2014; WILLIAMS *et al.*, 2018).

15

Outros estudos estabeleceram diferentes níveis de *cut-off*, como valores de cIMT ≥ 1,0 mm foram considerados patológicos (BONGIOVANNI *et al.*, 2008), sendo fatores associados como: idade, sexo masculino, hipertrigliceridemia e aumento dos níveis de

17

1 glicose. Já Pirs e colaboradores (2014) consideraram como alterada cIMT >0,8 mm, com base
2 em estudos prévios (O'LEARY et al., 1999).

3

4 **1.7. ESPESSURA DA ÍNTIMA MÉDIA DA CARÓTIDA (CIMT) EM PACIENTES COM HIV-1**

5

6 A cIMT é considerada um marcador para DCV aterosclerótica e seu aumento
7 proporcional é associado a um número de eventos cardiovasculares em pacientes não
8 infectados pelo HIV-1. Estudos mostram que a espessura da cIMT de pacientes infectados
9 pelo HIV-1 foi maior do que em indivíduos controles (VAN VONDEREN *et al.*, 2009; KRIKKE *et*
10 *al.*, 2017). No entanto, não observaram diferença comparando crianças e adolescentes
11 infectados pelo HIV-1, em supressão virológica, quando comparados com controles
12 (LONGENECKER *et al.*, 2017).

13 As modificações da cIMT são resultados do dano inicial aos vasos, permitindo a
14 penetração de células inflamatórias nas paredes arteriais; o aumento progressivo da íntima-
15 média está associado com maior probabilidade de DCV, e ainda não há correlação com
16 escores de risco cardiovascular como o escore de risco ASCVD (*Atherosclerotic*
17 *Cardiovascular Disease*, doença aterosclerótica cardiovascular) e o Escore de Risco
18 *Framingham* (FRS, *Framingham Risk Score*) (MOSEPELE *et al.*, 2017). Pacientes tratados com
19 ARV apresentam cIMT significativamente mais espessa do que os pacientes virgens de
20 tratamento. As alterações nos parâmetros metabólicos, como a homocisteína, são mais
21 intensas em pacientes tratados, sugerindo um processo metabólico decorrente das ARVs
22 (PICONI *et al.*, 2013).

23 A espessura da íntima média está aumentada em condições inflamatórias infecciosas
24 crônicas, explicada pelo fato de que os receptores *toll-like receptors* (TLRs), que são
25 moléculas que reconhecem moléculas expressas pelos patógenos, são envolvidos na
26 patogênese da aterosclerose (ERRIDGE, 2009). Em particular, a expressão do TLR2 e TLR4
27 está aumentada em placas ateroscleróticas e associada à infiltração de células inflamatórias
28 na parede arterial, assim como a progressão da doença aterosclerótica (ERRIDGE, 2009).

29 A infecção crônica pelo HIV-1 pode levar ao endotélio vascular a danificar e aumentar
30 a espessura da parede do vaso (PAPITA *et al.*, 2011). Em uma coorte multicêntrica, um grupo
31 de pacientes infectados pelo HIV-1 apresentou valores mais baixos de cIMT do que os

1 controles, caracterizados por serem mais velhos (> 50 anos) e sem tratamento, terem níveis
2 mais elevados de carga viral e baixas contagens de LT CD4⁺. Os valores mais baixos de cIMT,
3 apesar do aumento geral do risco de DCV aterosclerótica, foram observados em indivíduos
4 com artrite reumatoide (HANNA *et al.*, 2015), cenário ainda em discussão.

5 Resultados conflitantes têm sido relatados por estudos que investigaram a relação
6 entre a infecção pelo HIV-1 e exposição aos ARVs com a cIMT. Um grupo brasileiro
7 comparou pacientes infectados pelo HIV-1 virgens de tratamento, infectados em cART e não
8 infectados pelo HIV-1, para determinar a associação entre exposição à ARV, a própria
9 infecção pelo HIV-1 e ao risco de aterosclerose. No entanto, o estudo não evidenciou
10 qualquer associação entre uso e duração de cART, infecção por HIV e cIMT > 1 mm.
11 Possivelmente, o impacto do tratamento do HIV-1 nos parâmetros metabólicos podem levar
12 mais tempo para traduzir-se em mudanças na cIMT (BONGIOVANNI *et al.*, 2008).

13

14 **1.8. MARCADORES INFLAMATÓRIOS E ANTI-INFLAMATÓRIOS NA INFECÇÃO PELO HIV-1 E A CIMT**

15

16 Existem evidências que apoiam o papel da inflamação e da ativação e disfunção
17 endotelial no desenvolvimento da formação de placas e na progressão da aterosclerose.
18 Níveis elevados da citocina pró-inflamatória IL-6 e da PCR estão associados à aterosclerose
19 subclínica e são preditivos de eventos cardiovasculares. Além disso, o TNF- α tem sido
20 implicado na disfunção miocárdica após síndromes coronarianas agudas, e seus níveis
21 mostraram-se mais elevados em pacientes que tiveram IAM. Da mesma forma, os níveis
22 VCAM-1 e ICAM-1 solúveis, bem como níveis de fator de vWF são associados com aumento
23 da ativação de células endoteliais na aterosclerose (CHOW *et al.*, 2016).

24 Indivíduos infectados pelo HIV-1 têm um risco maior de aterosclerose subclínica e
25 eventos cardiovasculares, mesmo entre aqueles com níveis suprimidos de carga viral em
26 comparação com pessoas não infectadas (TRIANI *et al.*, 2007; HANNA *et al.*, 2015; SICO *et*
27 *al.*, 2015). Os mecanismos responsáveis por esse aumento do risco associado ao HIV-1
28 podem incluir ativação imunológica, efeitos colaterais metabólicos da cART e uma maior
29 prevalência de fatores de risco tradicionais para DCV entre pessoas infectadas pelo HIV
30 (SUBRAMANYA *et al.*, 2019). Estudos relatam associações entre os níveis de PCR, IL-6,
31 receptores solúveis do TNF- α tipo 1 e tipo 2 (sTNFR1 e sTNFR2) e biomarcadores de ativação

1 de monocitária como CD14 solúvel (sCD14), CD163 solúvel (sCD163), quimiocina CC ligante 2
2 (CCL2) e D-dímero com DCV subclínica independentemente dos fatores de risco
3 cardiovasculares tradicionais (LONGENECKER; SULLIVAN; BAKER, 2016; SUBRAMANYA et al.,
4 2019). Apesar disso, ainda é incerta a relação dos marcadores de ativação monocitária com a
5 cIMT (SUBRAMANYA et al., 2019).

6 Recentemente, Vos e colaboradores em estudo de meta-análise, evidenciaram a
7 relação do papel da inflamação, da DCV e a cIMT com a infecção pelo HIV-1. Embora tenha
8 sido observada uma associação entre marcadores pró-inflamatórios (PCR, IL-6 e D-dímero) e
9 DCV, não foi encontrado associação entre os marcadores pró-inflamatórios e cIMT (VOS *et*
10 *al.*, 2016).

11 **1.8.1. ADIPONECTINA**

12
13 Durante muitas décadas, o tecido adiposo foi considerado um compartimento de
14 corpo inerte cujo único papel era o isolamento térmico do corpo e armazenamento de
15 energia na forma de triacilgliceróis. Posteriormente, o tecido adiposo foi reconhecido como
16 um importante órgão endócrino e parácrino que produz centenas de proteínas como as
17 adipocinas: adiponectina, leptina, resistina, as citocinas fator de necrose tumoral (TNF)- α e
18 IL-6, fatores de coagulação como inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (*Plasminogen*
19 *activator inhibitor-1*, PAI-1), além do peptídeo natriurético atrial e angiotensinogênio
20 (KERSHAW; FLIER, 2004; NTAIOS *et al.*, 2013; ANDEL; HEIJBOER; DRENT, 2018).

21 As adipocinas podem desempenhar um papel importante na patogênese da SM
22 associada ao HIV e podem estar associadas direta ou indiretamente na doença. Evidências
23 recentes sugerem que a proteína C reativa (PCR), IL-6, IL-18, adiponectina e leptina podem,
24 independentemente, contribuir para o risco de DCV tanto em pacientes não infectados pelo
25 HIV, como em pacientes infectados (FALASCA et al., 2007, 2010). Pacientes em cART com
26 alto risco cardiovascular têm níveis plasmáticos aumentados de leptina, IL-6, IL-18 e cistatina
27 C e diminuídos de adiponectina.

28 Na obesidade e síndrome metabólica, um estado altamente inflamatório é induzido
29 pela infiltração de células inflamatórias no tecido adiposo tecido, especialmente macrófagos
30 ativados. Nestas condições, o tecido adiposo produz adipocinas pró-inflamatórias, como
31 TNF- α , IL -6, proteína quimiotática-1 de monócitos (*monocytes chemotactic protein-1 MCP-*

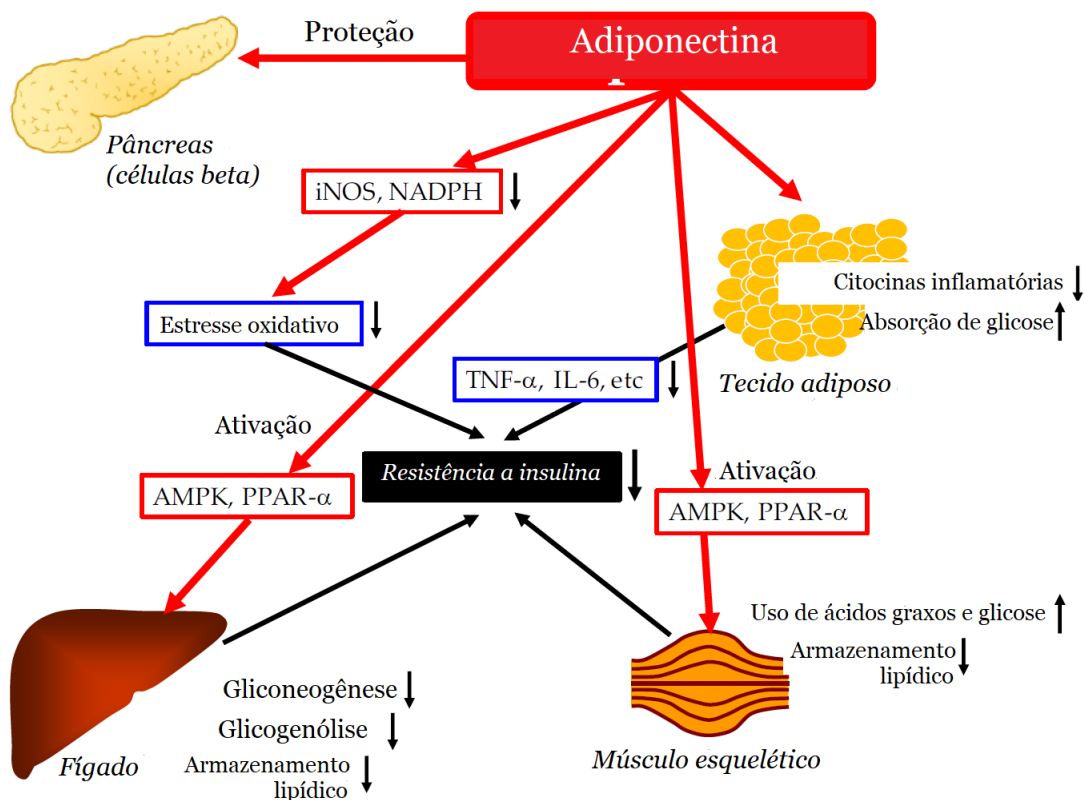
1 1), lipocalina-2 e resistina, que induzem a aterosclerose. Nessas circunstâncias, a produção
2 de adiponectina é marcadamente reduzida (YANAI; YOSHIDA, 2019).

3 A adiponectina, secretada principalmente pelo tecido adiposo, circula através de três
4 isoformas: baixo peso, médio e alto peso molecular, sendo a de alto peso molecular a mais
5 biologicamente ativa das três (ANDEL; HEIJBOER; DRENT, 2018) e corresponde a 0,01% das
6 proteínas plasmáticas (YANAI; YOSHIDA, 2019).

7 A figura 8 demonstra como a adiponectina pode reduzir as reações inflamatórias, que
8 podem melhorar a resistência à insulina. As propriedades anti-inflamatórias da adiponectina
9 são provavelmente o principal componente de seus efeitos benéficos para aliviar a
10 resistência à insulina e doenças vasculares (YANAI; YOSHIDA, 2019).

11

Figura 8 - Possíveis mecanismos para o metabolismo da glicose mediado pela adiponectina



12

13 AMPK, proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina; IL-6, interleucina-6; iNOS, óxido
14 nítrico sintase induzível; NADPH, fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo; PPAR- γ ,
15 peroxissoma receptor- γ ativado por proliferador, TNF- α , fator de necrose tumoral- α .

16 **Fonte:** Adaptado de Yanai (2019).

17

18

1

2 Os níveis de adiponectina aumentam pela influência do receptor ativado por
3 proliferadores de peroxissoma gama (*peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- γ* .
4 Antagonistas do PPAR- γ como o fator de transcrição κ B (*nuclear factor kappa B, NF κ B*), inicia
5 *downregulation* de adiponectina mediada por TNF α . Essa *downregulation do* PPAR- γ através
6 de TNF α é um fenômeno crônico na obesidade que promove baixos níveis de adiponectina
7 (ANDEL; HEIJBOER; DRENT, 2018).

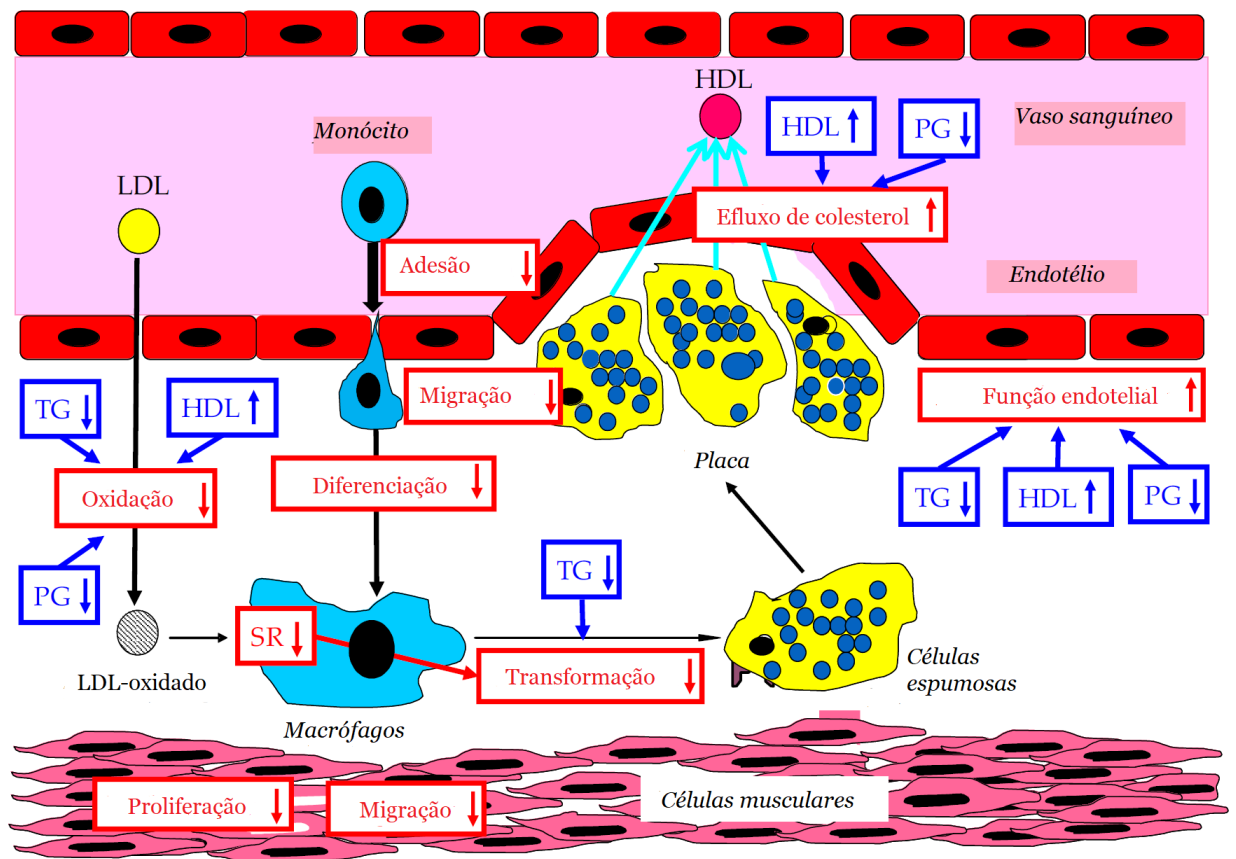
8 O aumento do risco de aterosclerose carotídea entre indivíduos com baixo nível de
9 perfil anti-inflamatório sugere que níveis baixos de adiponectina é associada a dano vascular
10 e que indivíduos com menores níveis também têm HDL-C menor e maior TG. Acredita-se que
11 ocorra defeito na resposta anti-inflamatória durante os primeiros anos da infecção pelo HIV-
12 1, gerando um estado pró-inflamatório que perpetua-se com o tempo, promovendo um
13 declínio progressivo na resposta anti-inflamatória (DESVARIEUX *et al.*, 2013).

14 As adipocinas exercem ações diretas na função endotelial, homeostase vascular e
15 aterogênese (YANAI; YOSHIDA, 2019). Como demonstrado nas figuras 8 e 9, a adiponectina
16 tem propriedades anti-inflamatórias, antiaterogênicas e sensibilizadoras de insulina. Ela
17 protege contra a aterogênese modulando a ligação cruzada entre as células endoteliais e
18 plaquetas, estimulando a produção de óxido nítrico (NO) e inibindo o fator de crescimento
19 endotelial vascular (VEGF). Em adultos não infectados pelo HIV, foi observada uma
20 correlação inversa entre excesso de peso e obesidade central e níveis plasmáticos de
21 adiponectina (KATSIKI; MANTZOROS; MIKHAILIDIS, 2017; ANDEL; HEIJBOER; DRENT, 2018;
22 ORLANDO *et al.*, 2019) e baixos valores plasmáticos de adiponectina estão associados a
23 vários fatores de risco cardiovasculares como HAS, resistência à insulina e SM (TRUJILLO;
24 SCHERER, 2005; ANDEL; HEIJBOER; DRENT, 2018; ORLANDO *et al.*, 2019).

25 Além dos marcadores pró-inflamatórios clássicos, baixos níveis de adiponectina são
26 associadas ao DMT2, HAS e DCV em indivíduos obesos, e correlacionadas com cIMT.
27 Adiponectina exerce cardioproteção por meio de diferentes mecanismos antiapoptóticos e
28 antioxidantes, proteção da disfunção endotelial e aumento da sensibilidade à insulina
29 tecidual. Além disso níveis baixos de adiponectina podem indicar acúmulo de gordura
30 visceral. Em pacientes com HIV-1, sua produção é reduzida devido à interação do efeito viral
31 direto, antirretrovirais e lipodistrofia (LUI *et al.*, 2017).

1 Baixos níveis plasmáticos de adiponectina são associados de forma independente a
 2 progressão precoce para aterosclerose. Além disso, adiponectina foi inversamente associada
 3 a um maior aumento da cIMT, independentemente dos fatores de risco tradicionais (HUI *et*
 4 *al.*, 2014). Assim, a adiponectina tem o potencial de servir como um marcador da progressão
 5 da cIMT e ajudar a identificar precocemente aqueles indivíduos que estão em alto risco de
 6 desenvolver doença aterosclerótica (GASBARRINO *et al.*, 2016).

7
 8 **Figura 9** - Possíveis efeitos antiateroscleróticos da adiponectina e melhora do metabolismo lipídico e da glicose pela adiponectina



9
 10
 11 HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; PG: glicose plasmática;
 12 SR:
 13 receptor de eliminação; TG: triglicerídeo. As setas em vermelho nos quadrados vermelhos mostram
 14 os efeitos antiateroscleróticos da adiponectina.

15 **Fonte:** Adaptado de: Yanai (2019).

1 2. JUSTIFICATIVA

2

3 O desenvolvimento de terapia cART mais tolerável mudou o cenário da infecção pelo
4 HIV-1: a doença viral com alta mortalidade transformou-se numa condição crônica e
5 manejável, e a expectativa de vida aumentou, o que promoveu imensa mudança nos
6 cuidados do PVHA. Tais pacientes com a infecção crônica, e mesmo com uso de cART, vivem
7 em um acelerado e acentuado processo inflamatório e metabólico que promovem o início
8 dos eventos não relacionados a aids, como a DCV (APPAY; KELLEHER, 2016).

9 Com o aumento da expectativa de vida nos PVHA causado pela cART, os fatores como
10 tabagismo, hábitos de vida e características sociodemográficas tornaram-se de extrema
11 importância. Como consequência do envelhecimento diagnostica-se mais frequentemente
12 comorbidades como DMT2, HAS, obesidade e DCV. Inicialmente, acreditava-se que apenas o
13 uso de cART da classe dos IPs era a causa primária da DCV, pelas complicações no
14 metabolismo de lipídeos levando a dislipidemias. Hoje, sabe-se que a própria infecção pelo
15 HIV-1 está independentemente associada ao aumento do risco cardiovascular e, apesar da
16 supressão viral, eventos cardiovasculares associados à aterosclerose (IAM, AVE, DAPC)
17 ocorrem com maior frequência na população infectada pelo HIV-1 do que na população em
18 geral (ECKARD *et al.*, 2016).

19 Além disto, sabendo que a resposta inflamatória apresenta grande variabilidade
20 individual e que é geneticamente determinada (WATERER; WUNDERINK, 2003), os
21 resultados obtidos em estudos prévios, realizados em populações com diferentes
22 características genéticas, não podem ser generalizados para outras populações,
23 principalmente para a população brasileira, considerada uma das mais geneticamente
24 heterogêneas do mundo (PENA *et al.*, 2011). A determinação do perfil inflamatório, anti-
25 inflamatório e metabólico e sua associação com a evolução da doença ateromatosa
26 carotídea, pode indicar terapêuticas mais precoces e eficazes na prevenção e tratamento de
27 DCV em PVHA. Entretanto, há controvérsias quanto ao início de terapia para prevenção de
28 DCV, que são provenientes de estudos realizados na população em geral. O FRS é
29 considerado um dos métodos de referência, cujas evidências atuais relatam um risco
30 subestimado por essa metodologia (PARRA *et al.*, 2010; LAMBERT *et al.*, 2016).

31 Enquanto a associação entre marcadores proinflamatórios e a aterosclerose de
32 carótida tem sido amplamente investigada em diferentes populações, os relatos se as

1 moléculas anti-inflamatórias também estariam associadas com a cIMT são escassos e com
2 resultados conflitantes. Até presente data, não se têm registro de estudos que relatam a
3 associação entre marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos com as
4 alterações na cIMT visualizadas por USGD em PVHA na população brasileira. Apesar de ser
5 um procedimento de custo acessível, a USGD é operador dependente e pode não estar
6 disponível e acessível em todos os serviços de saúde que atendem PVHA. Portanto, a
7 identificação de marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos que apresentem
8 associação com a presença e cIMT visualizada no USGD poderá contribuir para o diagnóstico
9 mais rápido e mais acessível de aterosclerose subclínica nestes pacientes que poderão se
10 beneficiar com estratégias terapêuticas personalizadas que levem em consideração o perfil
11 inflamatório e metabólico do indivíduo. Portanto, com o aumento da expectativa de vida
12 destes pacientes, é muito importante propor uma avaliação sistemática e precoce dos riscos
13 para eventos cardiovasculares nesta população.

14 Embora seja um procedimento de custo acessível e não invasivo, a USGD pode não
15 estar disponível em todos os serviços de saúde que atendem PVHA. Portanto, a identificação
16 de biomarcadores laboratoriais, como a adiponectina, que estão associados à cIMT, pode
17 contribuir para o diagnóstico mais rápido e acessível quanto ao custo e métodos disponíveis
18 comercialmente, da aterosclerose subclínica nesses pacientes, que podem se beneficiar de
19 estratégias terapêuticas personalizadas mais precoces e eficazes na prevenção e tratamento
20 de DCV em indivíduos com infecção pelo HIV-1. Com o aumento da expectativa de vida
21 desses pacientes, é muito importante propor uma avaliação sistemática e precoce dos riscos
22 para eventos cardiovasculares nessa população.

23

1 3. OBJETIVOS

2 3.1. OBJETIVO GERAL

3

- 4 • Analisar a associação entre marcadores da resposta inflamatória, anti-inflamatória e
5 metabólica com a doença carotídea aterosclerótica subclínica em um grupo de pacientes
6 infectados pelo HIV-1, atendidos no Ambulatório de Especialidades do Hospital
7 Universitário da Universidade Estadual de Londrina (AEHU/UEL).

8

9 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

10

- 11 • Determinar os níveis circulantes de marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e
12 metabólicos em um grupo de pacientes infectados pelo HIV-1 e controles saudáveis;

13

- 14 • Determinar a cIMT e o grau de estenose em um grupo de pacientes infectados pelo HIV-
15 1 avaliados pelo USGD de carótidas internas;

16

- 17 • Determinar a associação entre as alterações na resposta inflamatória, anti-inflamatória e
18 metabólica com a aterosclerose de carótidas internas avaliadas por USGD, segundo a
19 cIMT e o grau de estenose em pacientes infectados pelo HIV-1;

20

- 21 • Determinar a associação entre a cIMT e grau de estenose de carótidas internas com o
22 tempo de doença, cART, carga viral do HIV-1 e contagem de células T CD4⁺ do paciente
23 infectado pelo HIV-1.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (UEL), e, 23/11/2017, Parecer n. 2.395.912, registrado com o número CAAE 73545417.0.0000.5231 (Anexo 1). Todos os pacientes que consentiram a sua participação voluntária no estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1). Na impossibilidade de o paciente manifestar seu consentimento, sua participação foi autorizada pelos seus responsáveis por meio da assinatura do TCLE.

4.2. DELINEAMENTO

Inicialmente, foi realizado um estudo observacional e transversal em dois grupos de indivíduos, sendo um grupo de PVHA e outro de indivíduos controles saudáveis, em que os marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos foram descritos e comparados. Posteriormente, estes marcadores foram avaliados no grupo de PVHA categorizados de acordo com os resultados obtidos na USGD.

4.3. POPULAÇÃO

Em um período de 12 meses a partir da aprovação do presente estudo, foram inseridos indivíduos adultos, ambos os sexos e com diagnóstico de infecção pelo HIV-1 ou aids há, pelo menos cinco anos, em tratamento com cART, acompanhados no AEHU/UEL.

4.4. AMOSTRA

Trata-se de uma amostra consecutiva, de conveniência de tempo e local, com a inclusão, prospectiva 49 pacientes com diagnóstico de infecção pelo HIV-1, segundo o protocolo brasileiro (BRASIL, 2018) e com tempo de doença de pelo menos cinco anos, atendidos no AEHU/UEL. Todos os pacientes estavam em tratamento com cART, há, pelo menos cinco anos. Os pacientes estavam sem sintomas de aterosclerose. Como grupo controle, foram utilizadas as amostras de material biológico de 84 controles saudáveis que

1 foram previamente inseridos no projeto de pesquisa aprovado em 20/12/2011, pelo
2 CEP/UEL (Parecer 294/2011, CAAE: 0250.0.268.000-11, Folha de Rosto: 462193, cadastrado
3 na PROPPG n.08103, iniciado em 27/08/2012 e finalizado em 31/07/2015). Estes indivíduos
4 foram constituídos por doadores de sangue fidelizados do Hemocentro Regional de Londrina
5 e indivíduos saudáveis da população em geral que já assinaram o TCLE para o projeto de
6 pesquisa citado.

7

8 **4.5. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO**

9 Foram excluídos os pacientes e controles: a) que apresentaram processo inflamatório
10 ou infeccioso em tratamento no momento da avaliação (incluindo doença autoimune,
11 infecção aguda ou crônica de origem bacteriana ou viral como pneumonia, infecção do trato
12 urinário; b) em uso crônico de corticosteroides ou imunossupressores; c) portadores de
13 doença renal crônica, hepatopatia crônica, incluindo infecção pelos vírus da Hepatite B
14 (HBV) e infecção pelo vírus da hepatite C (HCV), neoplasias e doenças neurodegenerativas;
15 d) com doença aterosclerótica estabelecida como doença arterial coronariana, AVE, DAPC;
16 e) pós-operatório imediato e f) trauma nos últimos 30 dias.

17

18 **4.6. DADOS DEMOGRÁFICOS, CLÍNICOS E DE EPIDEMIOLÓGICOS**

19 As informações sobre os dados demográficos, fatores de estilo de vida e história
20 médica foram obtidas por meio de uma avaliação clínica com a aplicação de um questionário
21 padrão (Apêndice 2) respondido pelo paciente ou por seus responsáveis. Os dados foram,
22 também, obtidos por meio de consulta aos prontuários médicos e à base de dados LABHOS
23 do Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do HU/UEL. A duração da doença e as terapias
24 utilizadas foram registradas para cada paciente. Os participantes foram questionados quanto
25 ao uso de medicamentos hipolipemiantes, anti-hipertensivos, hipoglicemiantes e uso
26 suplementos antioxidantes e consumo de álcool. O peso corporal foi medido com
27 aproximação de 0,1 quilograma (kg) utilizando uma balança eletrônica, com os indivíduos
28 vestindo roupas leves, sem sapatos e no período da manhã. A altura foi medida com uma
29 aproximação de 0,1 centímetro (cm) por meio de um estadiômetro. O índice de massa
30 corporal (IMC) foi calculado como peso (kg) dividido pela altura (m) ao quadrado. A
31 circunferência abdominal foi mensurada e expressa em cm. Três aferições de pressão
32 arterial foram realizadas com um intervalo de um minuto com o paciente sentado. A média

1 destas aferições, expressas em mmHg, foi utilizada na análise dos dados. PAS \geq 130 mmHg e
2 PAD \geq 90 mmHg ou uso de anti-hipertensivo foram os critérios considerados para definir
3 HAS (JAMES et al., 2014). Presença de DMT2 foi definida como glicose em jejum \geq 126 mg/dL,
4 ou hemoglobina glicada (HbA1c) \geq 6,5% e/ou o uso de medicamentos antidiabéticos
5 (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014; JOHNSON et al., 2019). Dislipidemia foi definida
6 pela presença de uma ou mais das concentrações anormais de lipídeos no soro, como
7 colesterol total \geq 200 mg/dL, LDL-C \geq 130 mg/dL; HDL-C $<$ 40 mg/dL (NATIONAL CHOLESTEROL
8 EDUCATION PROGRAM (NCEP) EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, 2002).

9

10 **4.7. DADOS DE IMAGEM**

11 O exame de USGD de carótidas foi realizado no HU/UEL, utilizando-se o equipamento
12 *Siemens Acuson X300 Color Doppler Machine* (Siemens, Alemanha). Todos os pacientes
13 foram avaliados pelo mesmo examinador, colaborador deste estudo. Foram avaliadas da
14 espessura da camada íntima, o grau de estenose e presença de placa nas ACI direita e ACI
15 esquerda. Os resultados foram expressos pela média dos dados obtidos em ambos os vasos,
16 sendo a cIMT expressa em mm, o grau de estenose expresso em %. Considerou-se como
17 presença de placa quando o grau de estenose era \geq 50% ou \geq 1,5 mm, mesmo observados,
18 em apenas, um dos vasos avaliados. Os pacientes foram, também, categorizados de acordo
19 com a cIMT ($<$ 0,9 mm e \geq 0,9 mm) (PIRS et al., 2014), grau de estenose ($<$ 50% e \geq 50%) e
20 presença de placa (\geq 1,5 mm ou \geq 50%) (WILLIAMS et al., 2018).

21

22 **4.8. COLETA DE AMOSTRA BIOLÓGICA E EXAMES LABORATORIAIS**

23 Após jejum de 12 horas, os pacientes foram submetidos à coleta de sangue venoso
24 em tubo de coleta à vácuo, sem anticoagulante e com anticoagulante ácido
25 etilenodiaminotetracético (EDTA). O soro e plasma foram obtidos após centrifugação 10 min
26 2500 r.p.m. e armazenados no *freezer* -80 °C até o momento do uso.

27 Os exames laboratoriais foram realizados nos setores do LAC/HU, utilizando-se de
28 métodos padronizados e reagentes disponíveis comercialmente. Foram realizados contagem
29 de leucócitos periféricos e plaquetas por método automatizado.

30 Os níveis plasmáticos de IL-6, TNF- α e IL-10 e adiponectina foram determinados por
31 imunofluorimetria (Novex Life Technologies, Frederick, USA) com plataforma Luminex
32 MAGPIX® (Luminex Corp., TX, USA). Os níveis de PCR foram avaliados pelo método

1 automatizado de imunoturbidimetria ultrasensível (usPCR) (Architech™, Abbott Laboratory,
2 Abbott Park, IL, USA).

3 Foram, também, analisados marcadores metabólicos como níveis séricos de
4 colesterol total, triglicerídeos, HDL-C, LDL-C e glicose por método automatizado
5 (Dimension™Dade AR Dade Behring, Deerfield, IL, USA) e níveis plasmáticos de insulina e
6 homocisteína por imunoensaio de micropartícula com quimioluminescência (Architech™,
7 Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, USA).

8 A contagem de linfócitos T CD45⁺, T CD3⁺, T CD4⁺ e T CD8⁺ foi realizada pelo
9 método de citometria de fluxo (plataforma BD FACSCalibur®, BD Bioscience, San Jose, CA,
10 USA). Os resultados foram expressos em células/mm³, segundo as recomendações do
11 fabricante.

12 A quantificação do RNA do HIV-1 no plasma foi realizada por metodologia de
13 reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR, *Polymerase chain reaction*
14 *quantitative real time*) utilizando-se a plataforma Abbott, (Abbott Real Time HIV-1, Abbott
15 Molecular Inc. USA), segundo as recomendações do fabricante. Os valores foram expressos
16 como cópias/mL e log₁₀ RNA do HIV-1.

17

18 **4.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

19 Análises de tabelas de contingência (teste do χ^2) foram empregadas para verificar as
20 associações entre variáveis categóricas e grupos diagnósticos. O teste de Kolmogorov-
21 Smirnov foi utilizado para avaliar a normalidade da distribuição. A transformação logarítmica
22 (Ln) de dados contínuos foi utilizada na análise quando as variáveis não estavam
23 normalmente distribuídas ou quando havia heterogeneidade de variância, conforme
24 avaliado pelo teste de Levene. Avaliamos as diferenças nas variáveis contínuas entre os
25 grupos usando análises de variância (ANOVA). As variáveis categóricas foram expressas
26 como número absoluto (n) e porcentagem (%) e as variáveis contínuas foram expressas
27 como média \pm erro padrão da média (SEM).

28 Além da análise univariada, a associação com as variáveis significativas ($p < 0,05$) no
29 teste de ANOVA entre os grupos entre cIMT $< 0,09$ mm e $\geq 0,9$ mm foi avaliada usando três
30 modelos diferentes de análise de regressão logística binária automática (*stepwise*)
31 controlada por covariáveis que poderiam confundir a associação de interesse. Além disso,
32 avaliamos a cIMT em dados contínuos por regressão linear (*stepwise*), em duas etapas: Na

1 primeira etapa, analisamos separadamente os dados sociodemográficos (modelo #1), a
2 presença de comorbidades (modelo #2), metabólicas (modelo #3), biomarcadores
3 inflamatórios (modelo # 4) e dados associados à infecção pelo HIV-1 (modelo #5). Na
4 segunda etapa, avaliamos as variáveis significativas na primeira etapa, os demais dados
5 sociodemográficos e variáveis relacionadas ao HIV-1. A análise dos resíduos padronizados foi
6 avaliada para cada modelo testado. Correlação de Spearman foi empregada para verificar a
7 correlação entre cIMT, biomarcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos e
8 variáveis relacionadas ao HIV-1. *Odds ratio* (OR) e intervalo de confiança de 95% (IC)
9 também foram determinados. Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o IBM
10 SPSS, versão do Windows 24. Os testes foram bicaudais e um nível alfa de 0,05 indicou
11 resultados estatisticamente significativos.

12

1 5. RESULTADOS

2 Os resultados obtidos serão apresentados e discutidos no artigo científico com o
3 título **“Decrease levels of adiponectin in plasma of patients with HIV-1 infection are**
4 **associated with subclinical atherosclerosis”**, que será submetido à publicação em revista
5 internacional.

6

7

8

1 **Decrease levels of adiponectin in plasma of patients with HIV-1 infection are associated**
2 **with subclinical atherosclerosis**

3

4

5 Philippe Quagliato Bellinati¹, Daniela Frizon Alfieri^{2,3}, Tamires Flauzino³, Paulo Fernando
6 Gasparetto Junior⁴, Diogo Jorge Rossi¹, José Wander Breganó⁵, Andrea Name Colado
7 Simão^{3,5}, Elaine Regina Delicato de Almeida^{3,5}, Marcell Alysson Batisti Lozovoy^{3,5}, Edna Maria
8 Vissoci Reiche^{3,5}

9

10

11 ¹Infectious Diseases Unity, University Hospital, Londrina State University, Londrina, Paraná,
12 Brazil;

13 ²Department of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences Center, Londrina State University,
14 Londrina, Paraná, Brazil;

15 ³Laboratory of Research in Applied Immunology, Health Sciences Center, Londrina State
16 University, Londrina, Paraná, Brazil;

17 ⁴Vascular Unity, University Hospital, Londrina State University, Londrina, Paraná, Brazil;

18 ⁴Department of Pathology, Clinical Analysis and Toxicology, Health Sciences Center, Londrina
19 State University, Londrina, Paraná, Brazil;

20

21 **Corresponding author:** Edna Maria Vissoci Reiche, Department of Pathology, Clinical
22 Analysis, and Toxicology, Health Sciences Center, University Hospital, State University of
23 Londrina, Av. Robert Koch 60, CEP 86038-350, Londrina, Paraná, Brazil; E-mail:
24 reiche@sercomtel.com.br, Phone/Fax: +55 43 3371 2619. ORCID: 0000-0001-6507-2839

25

26

27

28

29

30

31

32

1 **Abstract**

2 **Introduction:** The carotid intima-media thickness (cIMT) has been associated with
3 inflammatory and metabolic biomarkers in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)
4 infected patients; however, the association between cIMT and anti-inflammatory molecules
5 is scarce.

6 **Objective:** To evaluate the presence of subclinical atherosclerosis among HIV-1 infected
7 patients and to determine the association between cIMT values with classical cardiovascular
8 risk factors, inflammatory, anti-inflammatory and metabolic biomarkers, as well as with
9 factors associated with HIV-1 infection.

10 **Subject and Methods:** First, inflammatory, anti-inflammatory and metabolic biomarkers
11 were compared between 49 patients with HIV-1 infection on combined antiretroviral
12 therapy (cART) for, at least, five years, and 85 controls. Further, these biomarkers were
13 evaluated in HIV-1 patients categorized according to the cIMT (<0.9 or ≥ 0.9 mm) or the
14 presence of atherosclerotic plaque visualized on ultrasonography doppler of carotid.

15 **Results:** HIV-1 patients presented higher levels of high sensitivity C reactive protein (hsCRP)
16 ($p=0.032$), tumor necrosis factor (TNF)- α ($p<0.001$), interleukin (IL)-6 ($p=0.006$), IL-10
17 ($p=0.003$), triglycerides ($p=0.001$), and insulin ($p<0.001$), and low levels of adiponectin
18 ($p<0.001$), total cholesterol ($p=0.015$) and low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol
19 ($p=0.024$) than controls, after adjusted by covariates. The cIMT ≥ 0.9 mm or atherosclerotic
20 plaque in carotid arteries was observed in 24 (48.9%) patients. Low levels of adiponectin
21 were independently associated with cIMT ≥ 0.9 mm after adjusted by the possible
22 confounding variables [odds ratio (OR): 0.267, 95% confidence interval (CI): 0.089-0.801,
23 $p=0.019$], and explained 18.7% of the cIMT variance. In addition, in linear modeling
24 regression, age ($p=0.033$) and current smoking ($p=0.028$) were positively associated with
25 cIMT, while adiponectin levels ($p=0.008$) were negatively associated with cIMT; moreover,
26 these three variables together explained 27.3% of cIMT variance.

27 **Conclusion:** These results showed the high frequency of subclinical atherosclerosis in HIV-1
28 patients, as well as the association between low levels of adiponectin with cIMT. Therefore,
29 adiponectin levels may be a good candidate for predicting subclinical atherosclerosis in the
30 management of HIV-1 patients in public health care, especially where USGD is not available.

31

1 **Keywords:** HIV-1 infection, adiponectin, subclinical atherosclerosis, carotid intima-media
2 thickness, inflammation.

3

4 **Introduction**

5

6 The wide access to the combination antiretroviral therapy (cART) by persons infected
7 with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) has provided a decline in the mortality
8 due to acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)-related causes, providing a longer
9 survival for these individuals. In addition to this increased longevity, there are the effects of
10 age that increases the risk of comorbid chronic conditions, such as type 2 diabetes mellitus
11 (T2DM), hypertension, atherosclerosis, and cardiovascular diseases (CVD) (1–3). The HIV-1
12 infection *per se* with cART increases the risk of CVD; moreover, HIV-1-infected patients with
13 or without cART present a more rapid progression of atherosclerosis. Individuals with HIV-1
14 infection have higher carotid intima-media thickness (cIMT), and therefore, a higher
15 atherosclerotic burden compared to HIV-1 negative individuals (4,5).

16 Inflammation is one of the risk factors for CVD and untreated HIV-1 infection is an
17 example of chronic inflammation that can lead to atherosclerosis and metabolic alterations
18 increasing the risk of CVD (6,7). In addition, metabolic disorders increase the risk of CVD in
19 patients with HIV-1 infection. However, both in the general population and in HIV-1 patients,
20 CVD is a multifactorial process, which includes cART drugs, HIV-1 itself, host genetic and
21 environmental factors (8).

22 Evidence suggests that C-reactive protein (CRP), interleukin (IL)-6, IL-18, adiponectin
23 and leptin may independently contribute to the risk of CVD in both non-HIV-1 infected and
24 infected patients (9,10). Adiponectin is an adipocyte-derived secreted factor that exerts anti-
25 inflammatory and anti-atherogenic properties and is extensively studied (11–14). Low
26 plasma levels of adiponectin are associated with early progression to atherosclerosis and this
27 hormone was inversely associated with increase in cIMT, independently of the traditional
28 risk factors (15). Thus, adiponectin has the potential to serve as a biomarker of cIMT
29 progression and to help early identify those individuals who are at high risk of developing
30 atherosclerotic disease (16).

31 Previous studies in HIV-1 individuals have associated cIMT with inflammation and
32 immune activation (17–19). While the association between inflammatory biomarkers and

1 carotid atherosclerosis has been widely investigated in different populations (reviewed by
2 VOS et al., 2016), reports with anti-inflammatory molecules in association with cIMT are
3 sparse.

4 To our knowledge, there is no record of studies reporting the association between a
5 set of inflammatory, anti-inflammatory and metabolic biomarkers with changes in cIMT
6 visualized by ultrasonography with doppler (USGD) of carotid in HIV-1 individuals from
7 Brazilian population. Although it is a cost-effective procedure, the USGD may not be
8 available in all health services that provide these individuals. Therefore, the identification of
9 biomarkers that are associated with cIMT may provide a useful tool to predict the subclinical
10 atherosclerosis in HIV-1 population. In this context, the aim of this study is to evaluate the
11 presence of subclinical atherosclerosis among HIV-1 infected patients and to determine the
12 association between cIMT values with classical cardiovascular risk factors, inflammatory,
13 anti-inflammatory and metabolic biomarkers, as well as with factors associated with HIV-1
14 infection.

15

16 **Methods**

17 The study received approval by the Institutional Research Ethics Committees of State
18 University of Londrina (Paraná, Brazil) (CAAE n. 73547417.0.0000.5231), and all invited
19 individuals were informed of the details of the research and provided written informed
20 consent.

21

22 *Study subjects*

23 Between January 2018 and December 2018, the study enrolled, 49 patients, adults,
24 both sexes, with HIV-1 infection and on cART for, at least, five years, consecutively attended
25 at the Specialized Outpatient of University Hospital of Londrina, Paraná. Southern Brazil. All
26 the patients were on cART, including nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs),
27 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), protease inhibitors (PIs), and
28 integrase inhibitors (INI), according to the Brazilian guidelines (21). As controls, we included
29 data and blood samples from 85 nonrelated healthy individuals who participated in other
30 previous studies and also provided written informed consent.

31 The exclusion criteria were the patients and controls who: a) presented an
32 inflammatory or infectious processes under treatment at the time of inclusion in the study

1 (including autoimmune diseases, acute or chronic bacterial or viral infections, such as
2 pneumonia and urinary tract infection; b) chronic use of corticosteroids or
3 immunosuppressant drugs; c) patients with chronic kidney disease, chronic hepatopathy,
4 including infection with hepatitis B virus (HBV) and infection with hepatitis C virus (HCV) and
5 neurodegenerative diseases; d) presented established atherosclerotic disease, such as
6 stroke, acute myocardial infarction and peripheral chronic arterial disease; e) cancer; f)
7 immediate postoperative; and g) trauma in the last 30 days.

8 Demographic data, lifestyle factors and medical history were obtained at the time of
9 admission for subjects using clinical evaluation and a standard questionnaire. The ethnicity
10 was classified according to individual's self-perception of skin color as Caucasian and non-
11 Caucasian. Body mass index (BMI) and waist circumference were recorded; systolic blood
12 pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were measured and the mean of these
13 measurements was used in the analysis. Moreover, use of antihypertensive medication was
14 an indication of systemic arterial hypertension (SAH) (22). T2DM was defined as a fasting
15 serum glucose ≥ 126 mg/dL, Glycated hemoglobin (A1c) $\geq 6,5\%$ mg/dL and/or use of
16 hypoglycemic medication (23,24). Dyslipidemia was defined: total cholesterol (TC) ≥ 200
17 mg/dL, LDL-C ≥ 130 mg/dL; HDL-C < 40 mg/dL LDL ≥ 130 , as previously reported (25).

18

19 *Carotid intima-media thickness measurement*

20 Carotid USGD examination was performed using the *Siemens Acuson X300 Color*
21 *Doppler Machine* (Siemens, Germany). All HIV-1-infected patients were evaluated by the
22 same examiner, a specifically vascular trained physician, who collaborated with this study.
23 The registered variables were cIMT (expressed in mm), stenosis: mean cIMT was calculated
24 as the average of three measurements of the left and right carotid artery. Increased cIMT
25 was defined as ≥ 0.9 mm (26). Plaque was defined as a focal structure that demonstrated a
26 thickness of ≥ 1.5 mm or $\geq 50\%$ of stenosis. The patients were classified according to cIMT
27 (< 0.9 mm and ≥ 0.9 mm), degree of stenosis ($< 50\%$ and $\geq 50\%$) and presence of plaque (≥ 1.5
28 mm or $\geq 50\%$) (27–29).

29

30 *Inflammatory, anti-inflammatory and metabolic biomarkers*

31 Peripheral blood samples were collected with and without EDTA as an
32 anticoagulant after fasting for 12 hours. When the assay was not performed on the same

1 day, the samples were immediately centrifuged at 3,000 rpm for 15 minutes, and the plasma
2 and serum aliquots were stored at -80 °C until use.

3 The inflammatory biomarkers included peripheral leukocyte hematological
4 autoanalyzer, C-reactive protein determined with high sensitivity assay (hsCRP) using
5 turbidimetry (Architect C8000, Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, USA), plasma levels of
6 tumor necrosis factor (TNF)- α , IL-6, IL-10, and adiponectin determined using
7 immunofluorimetric method with microspheres multiplex immunoassay (Novex Life
8 Technologies, Frederick, USA) for Luminex platform in MAGPIX[®] instrument (Luminex Corp.,
9 TX, USA).

10 Metabolic biomarkers included glucose, total cholesterol (TC), high-density
11 lipoprotein (HDL)-cholesterol, low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol, and triglycerides
12 using a biochemical autoanalyzer (Dimension Dade AR Dade Behring, Deerfield, IL, USA);
13 homocysteine determined with chemiluminescent microparticle assay (CMIA) (Architect
14 i2000, Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, USA).

15

16 *HIV-1 infection biomarkers*

17 CD4⁺ T cell counts were evaluated using flow cytometry (BD FACSCalibur™, Becton,
18 Dickinson and Company, Biosciences BD, USA) and expressed as cells/ μ L. RNA HIV-1 levels
19 were quantified using quantitative polymerase chain reaction with lower detection limit of
20 50 copies/mL (Abbott Real Time HIV-1, Abbott Molecular Inc. USA), according to the
21 available reagent sets provided by the Brazilian Public Network, and both results expressed
22 as copies/mL and log₁₀ copies/mL. For purposes of this study, the CD4⁺ T cell count and RNA
23 HIV-1 viral load were categorized as ≥ 200 cells/ μ L and < 50 copies/mL (< 1.70 log₁₀
24 copies/mL), respectively.

25

26 *Statistical analysis*

27 Analyzes of contingency tables (χ^2 test) were employed to check the associations
28 between categorical variables and diagnostic groups. The Kolmogorov-Smirnov test was
29 used to assess normality of distribution. Logarithmic (Ln) transformation of continuous data
30 was used in the analysis when the variables were not normally distributed or when there
31 was heterogeneity of variance as assessed with the Levene test. We assessed the differences
32 in continuous variables between groups using analyzes of variance (ANOVA). Categorical

1 variables were expressed as absolute number (n) and percentage (%) and continuous
2 variables were expressed as mean \pm error standard of main (SEM).

3 Besides the univariate analysis, the association with significant variables ($p < 0.05$) in
4 the ANOVA test between groups cIMT < 0.09 mm *versus* ≥ 0.9 mm was assessed using three
5 different models of automatic stepwise binary logistic regression analysis controlled for
6 covariates that may confound the association of interest. Moreover, we evaluated cIMT as
7 continuous data by linear regression (stepwise), in two steps. In the first step, we separately
8 analyzed sociodemographic data (model # 1), the presence of comorbidities (model # 2),
9 metabolic data (model # 3), inflammatory biomarkers (model # 4) and data associated with
10 HIV-1 infection (model # 5). In the second step, we evaluated the significant variables in the
11 first step with other sociodemographic data and HIV-1 related variables. The analysis of
12 standardized residues was evaluated for each model tested. Spearman correlation was
13 employed to verify the correlation between cIMT, inflammatory, anti-inflammatory and
14 metabolic biomarkers and HIV-1 related variables. Odds ratio (OR) and 95% confidence
15 interval (CI) were also determined. All statistical analyzes were performed using IBM SPSS,
16 Windows version 24. Tests were 2-tailed and an alpha level of 0.05 indicated statistically
17 significant results.

18

19 **Results**

20 HIV-1 patients did not differ in the variables age ($p=0.192$), sex ($p=0.458$), ethnicity
21 ($p=0.874$), current smoking ($p=0.186$), and BMI ($p=0.231$) when compared to controls.
22 Although the BMI data did not differ between groups, HIV-1 patients had greater waist
23 circumference than controls ($p=0.001$). The presence of comorbidities, such as HAS and
24 T2DM, as well as the use of antihypertensive and hypoglycemic drugs were similar among
25 both groups ($p > 0.05$); however, hypolipemiant drugs use was higher in HIV-1 patients
26 ($p=0.001$). In univariate analysis, HIV-1 patients presented higher levels of hsCRP ($p=0.032$),
27 TNF- α ($p < 0.001$), IL-6 ($p < 0.001$), IL-10 ($p < 0.001$), triglycerides ($p=0.018$), and insulin
28 ($p=0.026$), and low levels of adiponectin ($p < 0.001$), TC ($p=0.002$) and LDL-cholesterol
29 ($p=0.003$) than controls. After adjusted by age, sex, ethnicity, waist circumference, and
30 hypolipemiant drugs use, these variables remained independently associated, such as hsCRP
31 ($p=0.032$), TNF- α ($p < 0.001$), IL-6 ($p=0.006$), IL-10 ($p=0.003$), triglycerides ($p=0.001$), and

1 insulin ($p < 0.001$), and low levels of adiponectin ($p < 0.001$), TC ($p = 0.015$) and LDL-cholesterol
2 ($p = 0.024$). Other variables were not different between the two groups (Table 1).

3 Of the 49 patients with HIV-1, included in the study, the median age at diagnosis was
4 13.07 years, 42 (89.4%) patients showed CD4⁺ T cell count ≥ 200 cell/ μ L and 14 (28.6%)
5 showed detectable RNA HIV-1 load (≥ 50 copies/mL). All the patients had been exposed to
6 cART: 46 (95.2%) were treated with NRTI, 21 (43.8%) were treated with NNTRI, 30 (62.5%)
7 with PI and six (12.5%) were using INI (Table 1). Among the HIV-1 patients, the cIMT mean
8 (\pm SEM) was 0.987 mm (± 0.047), ranging from 0.545 mm to ≥ 1.5 mm. The frequency of cIMT
9 ≥ 0.9 mm or atherosclerotic plaque in carotid arteries was 48.9% (24 patients).

10 In Tables 2 and 3, we showed all the biomarkers that were evaluated in the present
11 study, according to the presence of cIMT < 0.9 mm or ≥ 0.9 mm. Low levels of adiponectin
12 and HDL-cholesterol were associated with high cIMT ($p = 0.010$ and $p = 0.035$, respectively).

13 We carried out three different automatic stepwise regression analyses models with
14 cIMT ≥ 0.9 mm as dependent variable and the sociodemographic, clinical, and laboratory
15 biomarkers as exploratory variables. The #1 model, entering age, ethnicity, current smoking,
16 and waist circumference, the regression shows that adiponectin levels was negatively
17 associated with the cIMT ≥ 0.9 mm (OR: 0.254, 95% CI: 0.085-0.758, $p = 0.014$), and could
18 explained 19.2% (R^2 Nagelkelke) to the dependent variable. The #2 model, besides the
19 variables of #1 model, we added the presence of HAS, T2DM, dyslipidemia, as well as
20 antihypertensive, hypoglycemic and hypolipemiant drug use, the adiponectin remained
21 associated with cIMT ≥ 0.9 (OR: 0.254, 95% CI: 0.085-0.758, $p = 0.014$) and could explained
22 19.2% (R^2 Nagelkelke) to the dependent variable. Finally, in #3 model, it was added the HIV-1
23 biomarkers in #2 model, and the low levels of adiponectin remained independently
24 associated with cIMT ≥ 0.9 mm (OR: 0.267, 95% CI: 0.089-0.801, $p = 0.019$), and could
25 explained 18.7% (R^2 Nagelkelke) to the dependent variable. On the other hand, after
26 entering sociodemographic and clinical data associated with HIV-1, HDL-cholesterol levels
27 were not associated with cIMT ≥ 0.9 mm (Model #1 $p = 0.381$, Model #2 $p = 0.381$, Model 3#
28 $p = 0.566$) (Table 4).

29 Additionally, we analyzed the cIMT as a continuous variable by linear modeling
30 (stepwise), in two steps: In the first step, we analyzed separately the sociodemographic data
31 (#1 model), the presence of comorbidities (#2 model), metabolic biomarkers (#3 model),
32 inflammatory biomarkers (#4 model), and clinical data associated with HIV-1 infection (#5

1 model). In the second step, we evaluated the significant variables obtained in the step 1 with
2 the other sociodemographic data and clinical HIV-1 variables. When evaluated the
3 sociodemographic data (#1 model), age ($p=0.041$) and current smoking ($p=0.049$) were
4 positively associated with cIMT ($p\text{-model}=0.019$, $df=2$, R^2 adjusted= 0.121); however, sex
5 ($p=0.958$), ethnicity ($p=0.430$) and waist circumference ($p=0.972$) did not contributed to the
6 model. In #2 model, none of the comorbidities, such as HAS ($p=0.220$), T2DM ($p=0.386$),
7 dyslipidemia ($p=0.195$), use of antihypertensive ($p=0.407$), hypoglycemic ($p=0.280$) and
8 hypolipemiant drugs ($p=0.194$) were not associated with cIMT. For the metabolic biomarkers
9 (#3 model), the levels of TC ($p=0.700$), LDL-cholesterol ($p=0.650$), triglycerides ($p=0.354$),
10 HDL-cholesterol ($p=0.858$), homocysteine ($p=0.733$), glucose ($p=0.512$), and insulin ($p=0.822$)
11 were not associated with cIMT. In #4 model, adiponectin levels were inversely associated
12 with cIMT ($p=0.014$) ($p\text{-model}=0.016$, $df=1$, R^2 adjusted= 0.105); however, leukocytes
13 ($p=0.201$), hsCRP ($p=0.739$), IL-6 ($p=0.439$), TNF- α ($p=0.556$), and IL-10 ($p=0.532$) did not
14 enter in the model. In # 5 model, time of HIV-1 diagnostic ($p=0.471$), RNA HIV-1 viral load
15 ($p=0.372$), CD4⁺ T cell count ($p=0.884$), NNRTI ($p=0.229$), and PI ($p=0.111$) were not
16 associated with cIMT. Finally, in the second step, age ($p=0.033$) and current smoking
17 ($p=0.028$) were positively associated with cIMT, while adiponectin levels ($p=0.008$) were
18 negatively associated with cIMT; moreover, these three variables (age, current smoking and
19 adiponectin) can explain 27.3% of cIMT variance levels ($p\text{-model}=0.001$, $df=3$) (Table 5).

20 In view of the independent association of adiponectin with cIMT, Spearman rank
21 correlation was used to evaluate which other variables this adipokine was correlated. In this
22 analysis, plasma levels of adiponectin were negatively correlated with cIMT ($r=-0.319$,
23 $p=0.026$), time of HIV-1 diagnosis ($r=-0.327$, $p=0.009$), as well as peripheral leukocytes ($r=-$
24 0.442 , $p=0.002$), IL-6 ($r=-0.370$, $p=0.009$), IL-10 ($r=-0.394$, $p=0.005$), triglycerides ($r=-0.564$,
25 $p<0.001$), and insulin ($r=-0.487$, $p<0.001$) and a trend toward a negative correlation with
26 TNF- α ($r=-0.278$, $p=0.053$) in patients infected with HIV-1. Moreover, adiponectin was
27 positively correlated with HDL-cholesterol ($r=0.573$, $p<0.001$). The other variables included in
28 the present study did not correlate with adiponectin ($p>0.05$) (data not shown).

29

30 Discussion

31 In this study, we first compared inflammatory, anti-inflammatory and metabolic
32 biomarkers in adult HIV-1 infected subjects on cART and healthy controls. Patients with HIV-

1 1 on cART showed higher levels of inflammatory (hsCRP, TNF- α , IL-6) and metabolic
2 (triglycerides and insulin) biomarkers, as well as low levels of adiponectin than controls, after
3 adjusted by age, sex, ethnicity, waist circumference, and hypolipemiant drugs use. We
4 further found that 46.9% of HIV-1 patients presented cIMT \geq 0.9 mm or atherosclerotic
5 plaque in carotid arteries. When the variables were associated with cIMT in HIV-1 patients
6 we found that low levels of adiponectin were independently associated with higher cIMT
7 (\geq 0.9 mm). Moreover, the classical risk for CVD, such as age and current smoking were
8 positively associated with cIMT, while adiponectin levels were negatively associated with
9 cIMT.

10 The presence of subclinical atherosclerosis observed in almost 50,0% of the HIV-1
11 patients, underscores the high risk of CVD of HIV-1-infected patients as previously reported
12 (1–3).

13 HIV-1 infected patients are recognized to be at greater risk of CVD than the general
14 population, mainly as result of the HIV-1 infection *per se* that are known to cause vascular
15 endothelial inflammation by different mechanisms, including oxidative stress, cytokine
16 production and thrombogenic effects, as well as cART, which has been implicated in
17 metabolic abnormalities (30). HIV-1 infection and cART in association with the traditional risk
18 factors for atherosclerosis, such as age, sex, smoking, hypertension, T2DM, hyperlipidemia,
19 insulin resistance and lipodystrophy explain the accelerated rate of atherosclerosis in these
20 individuals.

21 One additional important finding in our study is that the reported current smoking,
22 regardless of the quantity used, was associated with high cIMT in HIV-1 patients.
23 Interestingly, this variable together with age and low levels of adiponectin explained 27.3%
24 of cIMT variance levels in HIV-1 patients.

25 Various preceding studies reported that smoking aggravated cIMT values (31,32).
26 Smoking directly affects the major pathways that promote the development of
27 atherosclerosis including vascular inflammation and lipid oxidation (33). Recently, a Japanese
28 cohort indicated that smoking was not associated with increased cIMT values and higher
29 prevalence of carotid artery plaque formation in younger healthy. However, the association
30 between smoking and increased cIMT was seen in participants with older age (34).

31 In contrast with our results, another Brazilian study showed that smoking did not
32 have effect on cIMT in HIV-1 patients and suggested that HIV-1 patients have other

1 atherogenic factors that would neutralize the effects of smoking on cIMT, with a tendency to
2 increase it, independently of smoking (35).

3 Fitch et al 2013 showed that smoking and aging interact and are associated with the
4 increase in cIMT in HIV-1 patients. They demonstrated that older HIV-1 smokers have a
5 higher cIMT than non-HIV-infected smokers and suggest a critical need for risk modification
6 to reduce the accelerated effects of aging on atherosclerosis rates in HIV-1 patients in
7 general and among HIV-1 smokers in particular.

8 The cIMT visualized using USGD of carotid is considered a surrogate marker for
9 atherosclerotic CVD even at very premature stage and its proportionate increase is
10 significantly associated with a higher rate of adverse cardiovascular events (37). The cIMT
11 shows a strong linear relation with age both in healthy and CVD patients. In addition, CVD or
12 CVD risk factors demonstrated a higher cIMT, which was present to a similar extent in all
13 decades of age, suggesting that the presence of CVD or CVD risk increases the cIMT, but did
14 not affect the annual increase in cIMT that can be attributed to age *per se* (38). In addition, a
15 cohort with 13-year follow-up demonstrated that the plaque area was related to traditional
16 risk factors for atherosclerosis (hypertension, lipid profile, smoking), while cIMT was more
17 age-related (39).

18 Moreover, we demonstrated the negative correlation of adiponectin with cIMT,
19 inflammatory (peripheral leukocytes and IL-6), metabolic (triglycerides and insulin), and HIV-
20 1 factor (years of HIV-1 diagnosis), as well as the positive correlation with HDL-cholesterol.
21 Previous study also showed that cIMT was negatively correlated with IL-6 and soluble TNF
22 receptor I (sTNFR1) even after adjustment for traditional CVD risk factors (18).

23 The negative correlation between adiponectin and the metabolic biomarkers
24 triglycerides and insulin, as well as its positive correlation with HDL-cholesterol observed in
25 the present study are explained by the functions of adiponectin in regulation of lipid and
26 glucose metabolism. Decreased adiponectin concentrations have been linked to higher LDL-
27 cholesterol and triglyceride concentrations probably due to direct effect of adiponectin on
28 lipoprotein lipase activity (40). Plasma adiponectin concentration is also reduced in visceral
29 obesity, which is negatively correlated with insulin resistance (41,42). Moreover, various
30 reports suggest that circulating adiponectin levels are negatively associated with triglyceride
31 levels while positively associated with plasma HDL-cholesterol levels (40,43).

1 Adiponectin levels increase by the influence of the peroxisome proliferator-activated
2 receptor γ (PPAR γ) receptor and are downregulated by the TNF α . The downregulation via
3 TNF α is a chronic phenomenon in obesity that promotes low adiponectin levels (44). In HIV-1
4 patients, the adiponectin production is reduced due to different factors, including the
5 interaction between the direct viral effect, antiretrovirals and lipodystrophy (45). The
6 inflammation induced by the chronic HIV-1 infection is accompanied decreased adiponectin
7 that, among its several effects, negatively modulates de production of TNF- α and IL-8. These
8 effects may explain the negative correlation between adiponectin and TNF- α , time of
9 diagnosis, and peripheral leukocytes obtained in the present study. The anti-inflammatory
10 properties of adiponectin have been reported to inhibit the stimulation of nuclear factor- κ B
11 (NF- κ B) signaling and TNF- α secretion from macrophages (12).

12 Negative correlation between adiponectin and insulin and triglycerides, as well as the
13 positive correlation between adiponectin and HDL-cholesterol are in accordance with the
14 study that focused that adiponectin are negatively correlated with the adverse features of
15 the metabolic syndrome as well as other associated features of insulin resistance and
16 conventional cardiovascular risk factors (11). Moreover, the negative correlation between
17 adiponectin and peripheral leukocytes and IL-6 levels is consistent with the anti-
18 inflammatory effects of adiponectin (14).

19 Adiponectin is the most abundant adipokine accounting for the 0.01% of total serum
20 protein (46) and decreased levels are associate with components of metabolic syndrome,
21 inflammation, and atherosclerosis. Adiponectin modulates negatively the activation of the
22 pro-inflammatory NF- κ B signaling pathway (47), decreasing the expression of pro-
23 inflammatory cytokines such as TNF- α , IL-6, and IFN- γ and increasing the expression of anti-
24 inflammatory molecules, such as IL-10 and IL-1ra (48). The negative correlation between
25 adiponectin and peripheral leukocytes observed in the present study could be as result of
26 the absence of inhibition of the chemotactic cytokine IL-8 by low levels of adiponectin (49).
27 Furthermore, this hormone blocks the proliferation and migration of human aortic smooth
28 muscle cells by inhibiting several atherogenic growth factors (50).

29 Although some authors show the relationship of pro-inflammatory proteins with the
30 increase of cIMT (51,52), in the present study, no differences were observed in peripheral
31 leukocytes, hsCRP, IL-6, TNF- α , IL-10, and homocysteine according to cIMT. Vos and
32 colleagues (2016), in a meta-analysis, showed the relationship between the role of

1 inflammation, CVD and cIMT with HIV-1 infection. Although an association between pro-
2 inflammatory markers (CRP, IL-6 and D-dimer) and CVD was observed, no association was
3 found between pro-inflammatory markers and cIMT (20).

4 Our study had some limitations, such as the cross-sectional and case-controlled
5 designs and the cIMT evaluation in a restricted sample of HIV-1 infected individuals. Our
6 study may not have adequate power to detect a correlation of cIMT with some expected
7 variables, such as hsCRP and TNF- α . However, this study underscores the potential role of
8 adiponectin levels to identify HIV-1 patients with clinical risk of atherosclerosis and future
9 cardiovascular events. The negative association between low levels of adiponectin and cIMT
10 remained significant even after the adjustment of important determinants of plasma
11 adiponectin levels, such as age, sex, ethnicity, waist circumference, hypertension, T2DM,
12 dyslipidemia, antihypertensive, hypoglycemic, and hypolipemiant drugs.

13

14 **Conclusion**

15 Taken together, this study underscores the association between treated HIV-1-
16 infected patients with a high level of inflammation, metabolic disorders and subclinical
17 atherosclerosis, and that all these factors, together with age and smoking, explain, in part,
18 the increased risk of CVD in these individuals.

19 With the increase in the life expectancy of these patients, it is very important to
20 propose a systematic and early and evaluation of the CVD risks in this population. The
21 identification of anti-inflammatory and metabolic biomarkers that are associated with the
22 presence and cIMT may contribute to the faster and more accessible diagnosis of subclinical
23 atherosclerosis in these patients, who may benefit from earlier and more effective
24 personalized therapeutic strategies in the prevention and treatment of CVD in individuals
25 with HIV-1 infection. Among them, the plasma levels of adiponectin showed to be more
26 associated with cIMT than HLD levels, a classical laboratory biomarker used for the CVD
27 risks. Therefore, adiponectin levels may be a good candidate for prediction of subclinical
28 atherosclerosis. It is a low-cost, easy-to-use test on a large scale and more affordable and
29 may be useful to be management of HIV-1 patients in public health care, mainly where the
30 USGD is not available.

31

32 **References**

- 1 1. Durand M, Sheehy O, Baril JG, Leloir J, Tremblay CL. Association between HIV infection,
2 antiretroviral therapy, and risk of acute myocardial infarction: A cohort and nested case-
3 control study using Québec's Public Health Insurance database. *Journal of Acquired*
4 *Immune Deficiency Syndromes*. 2011;57(13):245-53.
- 5 2. Freiberg MS, Chang CCH, Kuller LH, Skanderson M, Lowy E, Kraemer KL, et al. HIV
6 infection and the risk of acute myocardial infarction. *JAMA Internal Medicine*.
7 2013;173(8):614-22.
- 8 3. Friis-Møller N, Thiébaud R, Reiss P, Weber R, Monforte ADA, De Wit S, et al. Predicting
9 the risk of cardiovascular disease in HIV-infected patients: The Data collection on Adverse
10 Effects of Anti-HIV Drugs Study. *European Journal of Cardiovascular Prevention and*
11 *Rehabilitation*. 2010;17(5):491-501.
- 12 4. Gupta PK, Gupta M, Lal AK, Taneja A, Taneja RS, Rewari BB. Markers of subclinical
13 atherosclerotic disease in HIV-infected individuals. *Journal of virus eradication*.
14 2018;4(1):21–25.
- 15 5. Piconi S, Parisotto S, Rizzardini G, Passerini S, Meraviglia P, Schiavini M, et al.
16 Atherosclerosis is associated with multiple pathogenic mechanisms in HIV-infected
17 antiretroviral-naïve or treated individuals. *AIDS*. 2013;27(3):381–9.
- 18 6. Adeyemi O, Rezai K, Bahk M, Badri S, Thomas-Gossain N. Metabolic Syndrome in Older
19 HIV-Infected Patients: Data from the CORE50 Cohort. *AIDS Patient Care and STDs*.
20 2008;22(12):941-5.
- 21 7. Kotler DP. HIV and antiretroviral therapy: lipid abnormalities and associated
22 cardiovascular risk in HIV-infected patients. *Journal of Acquired Immune Deficiency*
23 *Syndromes*. 2008;49 Suppl 2:79–85.
- 24 8. Vachiat A, McCutcheon K, Tsabedze N, Zachariah D, Manga P. HIV and Ischemic Heart
25 Disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2017;69(1):73-82.
- 26 9. Falasca K, Ucciferri C, Manzoli L, Mancino P, Pizzigallo E, Conti P, et al. Metabolic
27 syndrome and cardiovascular risk in HIV-infected patients with lipodystrophy.
28 *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. 2007;20(3):519-527.
- 29 10. Falasca K, Ucciferri C, Mancino P, Di Iorio A, Vignale F, Pizzigallo E, et al. Cystatin C,
30 Adipokines and Cardiovascular Risk in HIV Infected Patients. *Current HIV Research*.
31 2010;8(5):405–410.
- 32 11. Gable DR, Hurel SJ, Humphries SE. Adiponectin and its gene variants as risk factors for
33 insulin resistance, the metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*.
34 2006;188(2):231-244.
- 35 12. Ouchi N, Walsh K. Adiponectin as an anti-inflammatory factor. *Clinica Chimica Acta*.
36 2007;380(1-2):24-30.
- 37 13. Ohashi K, Ouchi N, Matsuzawa Y. Anti-inflammatory and anti-atherogenic properties of
38 adiponectin. *Biochimie*. 2012; 94(10):2137-2142.

- 1 14. Villarreal-Molina MT, Antuna-Puente B. Adiponectin: Anti-inflammatory and
2 cardioprotective effects. *Biochimie*. 2012;94(10):2143-2149.
- 3 15. Hui E, Xu A, Chow W-S, Lee PCH, Fong CHY, Cheung SCW, et al. Hypoadiponectinemia As
4 an Independent Predictor for the Progression of Carotid Atherosclerosis: A 5-Year
5 Prospective Study. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. 2014;12(10)517-22.
- 6 16. Gasbarrino K, Gorgui J, Nauche B, Côté R, Daskalopoulou SS. Circulating adiponectin and
7 carotid intima-media thickness: A systematic review and meta-analysis. *Metabolism:
8 Clinical and Experimental*. 2016;65(7):968–986.
- 9 17. Kaplan RC, Sinclair E, Landay AL, Lurain N, Sharrett AR, Gange SJ, et al. T cell activation
10 and senescence predict subclinical carotid artery disease in HIV-infected women. *Journal
11 of Infectious Diseases*. 2011;203(4):452-63.
- 12 18. Longenecker CT, Funderburg NT, Jiang Y, Debanne S, Storer N, Labbato DE, et al. Markers
13 of inflammation and CD8 T-cell activation, but not monocyte activation, are associated
14 with subclinical carotid artery disease in HIV-infected individuals. *HIV Medicine*.
15 2013;14(6):385–390.
- 16 19. Ross AC, Rizk N, O’Riordan MA, Dogra V, El-Bejjani D, Storer N, et al. Relationship
17 between Inflammatory Markers, Endothelial Activation Markers, and Carotid Intima-
18 Media Thickness in HIV-Infected Patients Receiving Antiretroviral Therapy. *Clinical
19 Infectious Diseases*. 2009;49(7):1119–1127.
- 20 20. Vos AG, Idris NS, Barth RE, Klipstein-Grobusch K, Grobbee DE. Pro-Inflammatory Markers
21 in Relation to Cardiovascular Disease in HIV Infection. A Systematic Review. *PloS one*.
22 2016;11(1):e0147484.
- 23 21. Brasil. Clinical Protocol and Therapeutic Guidelines for Managing HIV Infection in Adults.
24 Brasilia: Ministry of Health: 2018.
- 25 22. James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J, et al.
26 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults:
27 report from the panel members appointed to the Eight Joint National Committee (JNC8).
28 *JAMA*. 2014; 311(5):507–20.
- 29 23. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes – 2014. 2014;37
30 (Supplement_1):S14–80.
- 31 24. Johnson EL, Feldman H, Butts A, Billy CDR, Dugan J, Leal S, et al. Standards of medical
32 care in diabetes—2019. *Clinical Diabetes*. 2019;37(1):11-34.
- 33 25. NCEP ATP III. Third Report of National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert
34 Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult
35 Treatment Panel III). *Circulation*. 2002; 106:3143–3421.
- 36 26. Pirs M, Jug B, Eržen B, Šabović M, Karner P, Poljak M, et al. Relationship between markers
37 of endothelial dysfunction and inflammation and subclinical atherosclerosis in HIV-
38 infected male patients below 55 years of age. *Acta Dermatovenerologica Alpina,
39 Pannonica et Adriatica*. 2014;23(3):49–52.

- 1 27. Williams, B et al. 2018 ESC / ESH Guidelines for the management of arterial hypertension.
2 European Heart Journal. 2018; 39(33)3021–3104.
- 3 28. Grunfeld C, Kotler DP, Arnett DK, Falutz JM, Haffner SM, Hruz P, et al. Contribution of
4 metabolic and anthropometric abnormalities to cardiovascular disease risk factors.
5 Circulation. 2008; 118(2):e20-8.
- 6 29. O’Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SKJ. Carotid-artery
7 intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older
8 adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. New England Journal
9 of Medicine. 1999;340(1):14-22.
- 10 30. Papita A, Albu A, Fodor D, Itu C, Cârstina D. Arterial stiffness and carotid intima-media
11 thickness in HIV infected patients. Medical Ultrasonography. 2011;13(2):127–134.
- 12 31. Dratva J, Probst-Hensch N, Schmidt-Trucksäss A, Caviezel S, de Groot E, Bettschart R, et
13 al. Atherogenesis in youth - Early consequence of adolescent smoking. Atherosclerosis.
14 2013;230(2):304–309.
- 15 32. Li S, Yun M, Fernandez C, Xu J, Srinivasan SR, Chen W, et al. Cigarette smoking
16 exacerbates the adverse effects of age and metabolic syndrome on subclinical
17 atherosclerosis: The Bogalusa Heart Study. PLoS ONE. 2014;9(5): e96368.
- 18 33. Barua RS, Ambrose JA. Mechanisms of coronary thrombosis in cigarette smoke exposure.
19 Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2013;33(7):1460–1467.
- 20 34. Kiriyaama H, Kaneko H, Itoh H, Yoshida Y, Nakanishi K, Mizuno Y, et al. Effect of cigarette
21 smoking on carotid artery atherosclerosis: a community-based cohort study. Heart and
22 Vessels. 2019. doi.org/10.1007/s00380-019-01455-5.
- 23 35. Salmazo PS, Bazan SGZ, Shiraishi FG, Bazan R, Okoshi K, Hueb JC. Frequency of Subclinical
24 Atherosclerosis in Brazilian HIV-Infected Patients TT. Arquivos Brasileiros de Cardiologia.
25 2018;110(5):402-410.
- 26 36. Fitch KV, Looby SE, Rope A, Eneh P, Hemphill L, Lee H, et al. Effects of aging and smoking
27 on carotid intima-media thickness in HIV-infection. AIDS. 2013;27(1):49–57.
- 28 37. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular
29 events with carotid intima-media thickness: A systematic review and meta-analysis.
30 Circulation. 2007;115(4):459–467.
- 31 38. van den Munckhof ICL, Jones H, Hopman MTE, de Graaf J, Nyakayiru J, van Dijk B, et al.
32 Relation between age and carotid artery intima-medial thickness: a systematic review.
33 Clinical Cardiology. 2018;41(5):698–704.
- 34 39. Herder M, Johnsen SH, Arntzen KA, Mathiesen EB. Risk factors for progression of carotid
35 intima-media thickness and total plaque area: A 13-year follow-up study: The Tromsø
36 study. Stroke. 2012;43(7):1818–1823.

- 1 40. Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, et al. Relationship of
2 adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: Evidence
3 for independent roles of age and sex. *Diabetologia*. 2003;46(4):459–469.
- 4 41. Gradinaru D, Margina D, Borsa C, Ionescu C, Ilie M, Costache M, et al. Adiponectin:
5 possible link between metabolic stress and oxidative stress in the elderly. *Aging Clinical
6 and Experimental Research*. 2017;29(4):621–629.
- 7 42. Yatagai T, Nagasaka S, Taniguchi A, Fukushima M, Nakamura T, Kuroe A, et al.
8 Hypoadiponectinemia is associated with visceral fat accumulation and insulin resistance
9 in Japanese men with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism: Clinical and Experimental*.
10 2003;52(10):1274–1278.
- 11 43. Tschritter O, Fritsche A, Thamer C, Haap M, Shirkavand F, Rahe S, et al. Plasma
12 adiponectin concentrations predict insulin sensitivity of both glucose and lipid
13 metabolism. *Diabetes*. 2003;52(2):239-43.
- 14 44. Andel M V, Heijboer AC, Drent ML. Adiponectin and Its Isoforms in Pathophysiology. *Adv
15 Clin Chem*. 2018; 85: 115-147.
- 16 45. Lui G, Ma RCW, Chook P, Wong CK, Tam CHT, Chan MHM, et al. Progression of
17 Atherosclerosis in HIV-Infected Individuals - Prospective Data from an Asian Cohort.
18 *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2017;75(2):198–202.
- 19 46. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa JI, et al. Paradoxical
20 decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and
21 Biophysical Research Communications*. 1999;257(1):79-83.
- 22 47. Yokota T, Oritani K, Takahashi I, Ishikawa J, Matsuyama A, Ouchi N, et al. Adiponectin, a
23 new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth
24 of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood*.
25 2000;96(5):1723-32.
- 26 48. Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, Enrich B, Tilg H. Adiponectin induces the anti-inflammatory
27 cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. *Biochemical and Biophysical Research
28 Communications*. 2004;323(2):630-5.
- 29 49. Saijo S, Nagata K, Nakano Y, Tobe T, Kobayashi Y. Inhibition by adiponectin of IL-8
30 production by human macrophages upon coculturing with late apoptotic cells.
31 *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2005;334(4):1180-3.
- 32 50. Wang AY-M, Wang M, Li PK-T, Lui S-F, Sanderson JE, Ho SS-Y, et al. Cardiac valvular
33 calcification as a marker of atherosclerosis and arterial calcification in end-stage renal
34 disease. *Archives of Internal Medicine*. 2005;165(3):327–332.
- 35 51. Longenecker CT, Sullivan C, Baker JV. Immune activation and cardiovascular disease in
36 chronic HIV infection. *Curr Opin HIV AIDS*. 2016;11(2):216-225.
- 37 52. Subramanya V, McKay HS, Brusca RM, Palella FJ, Kingsley LA, Witt MD, et al.
38 Inflammatory biomarkers and subclinical carotid atherosclerosis in HIV-infected and HIV-
39 uninfected men in the Multicenter AIDS Cohort Study. *PLoS ONE*. 2019;14(4):1–17.

1 **Table 1** Sociodemographic, clinical and inflammatory biomarker data in patients with human
 2 immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and controls

Characteristics	Controls (n=85)	HIV-1 (n=49)	df	F/X ²	p- value	p-value adjusted [†]
Age (y)*	47.92 (0.70)	49.75 (1.37)	1/134	1.720	0.192	-
Sex						
Male	49 (57.6)	25 (51.0)	1	0.552	0.458	-
Female	36 (42.4)	24 (49.0)				
Ethnicity						
Caucasian	72 (84.7)	41 (83.7)	1	0.025	0.874	-
Non-Caucasian	13 (15.3)	8 (16.3)				
BMI (kg/m ²)	26.32 (0.43)	25.02 (0.71)	1/133	1.446	0.231	-
Waist circumference (cm)	93.27 (1.14)	85.96 (1.98)	1/133	11.70	0.001	-
Current smoking	10 (11.9)	10 (20.4)	1	1.751	0.186	-
HAS	15 (20.5)	12 (24.5)	1	0.264	0.607	-
T2DM	11 (14.9)	5 (10.2)	1	-	0.587	-
Antihypertensive use	15 (19.7)	6 (12.2)	1	1.196	0.274	-
Hypoglycemic use	1 (1.3)	3 (6.1)	1	-	0.299	-
Hypolipemiant use	2 (2.6)	11 (22.4)	1	-	0.001	-
hsCRP (mg/L)*	3.81 (0.95)	4.83 (0.77)	1/132	4.674	0.032	0.032
Adiponectin (µg/mL)*	15.17 (1.09)	9.23 (0.73)	1/134	14.809	<0.001	<0.001
TNF-α (pg/mL)*	1.11 (0.25)	3.35 (0.38)	1/110	30.502	<0.001	<0.001
IL-6 (pg/mL)*	4.69 (1.35)	6.64 (1.11)	1/110	30.217	<0.001	0.006
IL-10 (pg/mL)*	0.45 (0.14)	4.84 (0.69)	1/110	86,77	<0.001	0.003
TC (mg/dL)*	204.47 (4.57)	181.08 (6.52)	1/134	10.25	0.002	0.015
Triglycerides (mg/dL)*	125.24 (12.30)	150.81 (11.22)	1/134	5.731	0.018	0.001
LDL-cholesterol (mg/dL)	125.18 (3.92)	105.46 (5.04)	1/134	9.436	0.003	0.024
HDL-cholesterol (mg/dL)*	54.17 (1.59)	53.26 (2.65)	1/134	0.461	0.498	0.094
Glucose (g/dL)	94.95 (15.59)	101.34 (4.31)	1/132	2.644	0.106	0.371
Insulin (IU/L)*	8.59 (0.81)	12.43 (2.34)	1/131	5.083	0.026	<0.001
Homocysteine (µM/L)	11.31 (0.56)	10.33 (0.46)	1/132	1.439	0.232	0.211
Time of HIV-1 diagnosis (y)	-	13.07 (0.90)				
CD4 ⁺ T cell count (cell/µL)	-	547.91 (45.16)				
≥200 (cell/µL)	-	42 (89.4)				
HIV-1viral load (copies/mL)	-					
Mean, Median	-	10887, 266				
Range	-	44-91693				
≥50 copies/mL	-	14 (28.6)				
<50 copies/mL	-	35 (71.4)				
Antiretroviral therapy	-					
NRTI	-	46 (95.2)				
NNRTI	-	21 (43.8)				

PI	-	30 (62.5)
Integrase Inhibitor	-	6 (12.5)

- 1 Data were expressed as absolute number (n) and percentage (%) or mean and standard error of the
2 mean (SEM). Continuous variables were analysed with ANOVA and categorical variables were X² test
3 or Exact Fischer test, when appropriated.
- 4 *Data were processed in natural logarithm (Ln) transformation.
- 5 †P-adjusted for age, sex, ethnicity, waist circumference, and hypolipemiant use.
- 6 y: year; BMI: body mass index; HAS: hypertension; T2DM: Diabetes mellitus; hsCRP: high sensibility C-
7 reactive protein; TNF- α : tumor necrosis factor- α ; IL: interleukin; TC: total cholesterol; LDL: low-
8 density lipoprotein; HDL: high-density lipoprotein; NRTI: nucleoside analogue reverse transcriptase
9 inhibitor; NNRTI: nonnucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor; PI: protease inhibitor.
- 10
11
12

1 **Table 2** Demographic and clinical data according to carotid intima-media thickness values (cIMT <
 2 0.90 mm or \geq 0.90 mm) in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) patients

Characteristics	cIMT < 0.9 mm (n=25)	cIMT \geq 0.9 mm (n=24)	df	F/X ²	P value
cIMT (mm)	0.72 (0.02)	1.26 (0.05)	1/49	96.44	<0.001
Min-Max	0.545-0.885	0.900-1.500			
Age (y)	48.04 (2.20)	51.54 (1.37)	1/49	1.644	0.206
Sex					
Female	15 (60.0)	10 (41.7)	1	1.647	0.199
Male	10 (40.0)	14 (58.3)			
Ethnicity					
Caucasian	21 (84.0)	20 (83.3)	1	-	0.960
Non-Caucasian	4 (16.0)	4 (16.7)			
BMI (kg/m ²)	25.42 (1.14)	25.33 (0.87)	1/49	0.004	0.953
Waist circumference (cm)	83.74 (2.86)	88.29 (2.76)	1/49	1.305	0.259
Current Smoking	4 (16.0)	6 (25.0)	1	-	0.496
HAS	4 (16.0)	8 (33.3)	1	-	0.196
T2DM	2 (8.0)	3 (12.5)	1	-	0.667
Dyslipidemia	6 (24.0)	11 (45.8)	1	2.576	0.108
Antihypertensive	2 (8.0)	4 (16.7)	1	-	0.417
Hypoglycemia	1 (4.0)	2 (8.3)	1	-	0.609
Hypolipemiant	3 (12.0)	8 (33.3)	1	-	0.095

3 Data were expressed as absolute number (n) and percentage (%) or mean and standard error of the
 4 mean (SEM). Continuous variables were analyzed with ANOVA and categorical variables were X² test
 5 or Exact Fischer test, when appropriated.

6 *Data were processed in natural logarithm (Ln) transformation.

7 Y: year; cIMT: Carotid Intima-Media Thickness; BMI: body mass index; HAS: hypertension; T2DM:
 8 Diabetes mellitus.

9

10

11

1 **Table 3** Inflammatory and metabolic biomarkers according to carotid intima-media thickness values
 2 (cIMT < 0.90 mm or ≥ 0.90 mm) in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) patients

Characteristics	cIMT < 0.9 mm (n=25)	cIMT ≥ 0.9 mm (n=24)	df	F/X ²	P value
Adiponectin (µg/mL)*	10.45 (1.11)	6.99 (6.67)	1/49	7.444	0.010
Leukocytes (cell/mm ³)	5433 (310)	5647 (471)	1/49	0.148	0.702
hsCRP (mg/L)*	5.26 (1.20)	4.36 (0.95)	1/48	0.078	0.782
TNF-α (pg/mL)*	3.29 (0.49)	3.42 (0.60)	1/49	0.034	0.855
IL-6 (pg/mL)*	5.28 (0.94)	8.06 (2.04)	1/49	0.002	0.967
IL-10 (pg/mL)*	5.95 (0.77)	7.48 (1.15)	1/49	0.171	0.681
TC (mg/dL)*	186.44 (9.21)	175.50 (9.31)	1/49	0.849	0.362
Triglycerides (mg/dL)*	143.36 (86.76)	158.58 (14.29)	1/49	1.176	0.284
LDL-cholesterol (mg/dL)	107.24 (7.62)	103.62 (6.71)	1/49	0.046	0.831
HDL-cholesterol (mg/dL)*	58.44 (3.71)	47.87 (3.55)	1/49	4.674	0.035
Glucose (mg/L)	95.68 (2.87)	107.77 (8.52)	1/48	2.319	0.135
Insulin (IU/L)*	10.99 (1.74)	13.87 (4.37)	1/48	0.141	0.709
Homocysteine (µM/L)	9.91 (0.80)	10.76 (0.44)	1/49	2.267	0.139
Time HIV-1 diagnosis (y)	12.50 (1.40)	15.04 (1.33)	1/48	1.720	0.164
CD4 ⁺ T cell count (cell/µL)	546.48 (78.48)	549.29 (50.03)	1/49	0.001	0.976
HIV-1 viral load					
Detected	7 (28.0)	7 (29.2)	1	0.008	0.928
Undetected	18 (72.0)	17 (70.8)			
Antiretroviral therapy					
NRTI	23 (95.8)	23 (95.8)	1	-	1.000
NNRTI	10 (41.7)	11 (45.8)	1	0.085	0.771
PI	15 (62.5)	15 (62.5)	1	0.000	1.000
Integrase Inhibitor	3 (12.5)	3 (12.5)	1	-	1.000

3 Data were expressed as absolute number (n) and percentage (%) or mean and standard error of the
 4 mean (SEM). Continuous variables were analyzed with ANOVA and categorical variables were X² test
 5 or Exact Fischer test, when appropriated. *Data were processed in natural logarithm (Ln)
 6 transformation. hsCRP: high sensibility C-reactive protein; TNF-α: tumor necrosis factor-α; IL:
 7 interleukin; TC: total cholesterol; LDL: low-density lipoprotein; HDL: high-density lipoprotein; NRTI:
 8 nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor; NNRTI: nonnucleoside analogue reverse
 9 transcriptase inhibitor; PI: protease inhibitor.

10

1 **Table 4** Results of three different models of binary logistic regression analyses (forward stepwise)
 2 with Carotid Intima-Media Thickness (cIMT <0.90 mm or ≥0.90 mm) as dependent variable

Dependent variable	Model	Explanatory variables	Wald	P value	OR (95% CI)
cIMT ≥0.90 mm	#1	Adiponectin *	6.034	0.014	0.254 (0.085-0.758)
		HDL-cholesterol*	0.768	0.381	-
	#2	Adiponectin *	6.034	0.014	0.254 (0.085-0.758)
		HDL-cholesterol *	0.768	0.381	-
	#3	Adiponectin *	5.544	0.019	0.267 (0.089-0.801)
		HDL-cholesterol*	0.877	0.566	-

3 *Data were processed in natural logarithm (Ln) transformation.

4 cIMT: carotid intima-media thickness; OR: odds ratio, CI: confidence interval; HDL: low-density
 5 lipoprotein. Model #1: adjusted by age, sex, ethnicity, waist circumference; and current smoking.

6 Model #2: adjusted by model #1 + hypertension, type 2 diabetes mellitus, dyslipidemia,
 7 antihypertensive, hypoglycemic, and hypolipemiant drugs. Model #3: adjusted by model #2 + HIV-1
 8 viral load, CD4⁺ T cell count, combined antiretroviral therapy, and time of HIV diagnosis. Nagelkerke
 9 #1= 0.192; Nagelkerke #2=0.192; Nagelkerke #3=0.187

10

11

12

- 1 **Table 5** Two steps of automatic linear regression analysis with carotid intima-media thickness (cIMT)
 2 continuous data as dependent variable and sociodemographic (#1 model), clinical (#2 model),
 3 metabolic (#3 model), inflammatory (#4 model), and HIV-1 infection (#5 model) characteristics in
 4 patients with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection

	Characteristics	β	P value	p-model	R ² adjusted
STEP 1^A					
#1 Model	Age (years) *	0.426	0.041	0.019	0.121
	Current Smoking	0.223	0.049		
	Sex	-0.007	0.958		
	Ethnicity	0.109	0.430		
	Waist circumference	-0.005	0.972		
#2 Model					
	HAS	0.183	0.220	-	-
	T2DM	0.128	0.368		
	Dyslipidemia	0.189	0.195		
	Antihypertensive	0.121	0.407		
	Hypoglycemiant	0.153	0.280		
	Hypolipemiant	0.185	0.194		
#3 Model					
	Total cholesterol *	-0.056	0.700	-	-
	LDL-cholesterol *	-0.066	0.650		
	Triglycerides *	0.133	0.354		
	HDL-cholesterol *	-0.026	0.856		
	Homocysteine *	0.056	0.733		
	Glucose *	0.099	0.512		
	Insulin *	-0.033	0.822		
#4 Model					
	Adiponectin *	-0.170	0.014	0.016	0.105
	Leukocytes	-0.195	0.201		
	hsCRP *	0.047	0.739		
	IL-6 *	-0.113	0.439		
	TNF- α *	-0.085	0.556		
	IL-10 *	-0.093	0.532		
#5 Model					
	Time of HIV-1diagnosis	0.104	0.471	-	-
	HIV-1 viral Load (≥ 50 copies/mL)	0.130	0.372		
	CD4 ⁺ T cell count/ μ L	0.021	0.884		
	NNRTI	0.176	0.229		
	PI	0.229	0.111		
STEP 2^B					
	Age*	0.448	0.033	0.001	0.273
	Adiponectin*	-0.179	0.008		
	Current Smoking	0.302	0.028		

1 ^A In first step, we analyze separately sociodemographic data (#1 model), the presence of
2 comorbidities (#2 model), metabolic biomarkers (#3 model), inflammatory biomarkers (#4 model),
3 and clinical data associated with HIV-1 infection (#5 model).

4 ^B In the second step, we included the significant variables obtained with sociodemographic and HIV-1
5 infection characteristics.

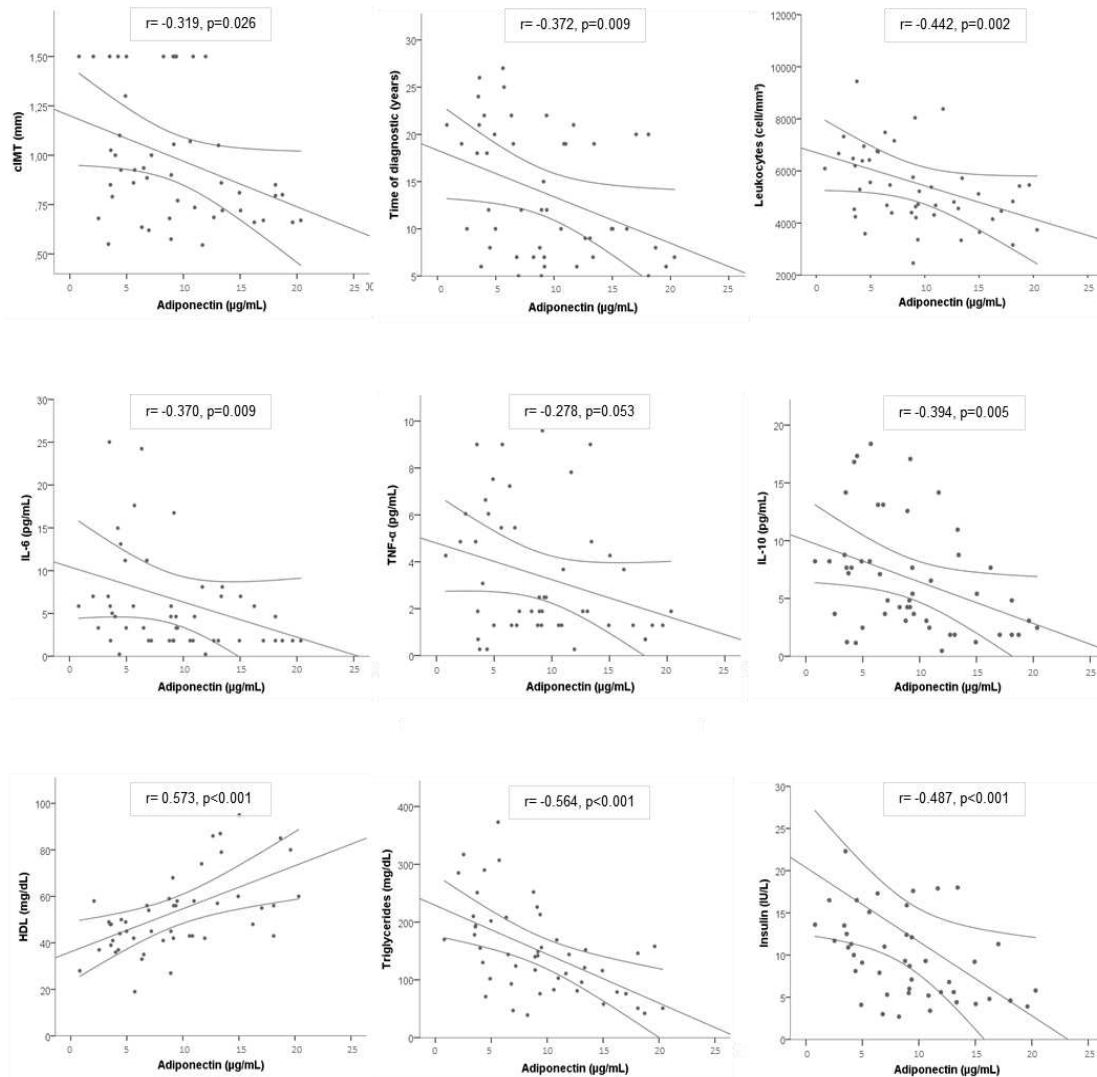
6 *Data were processed in natural logarithm (Ln) transformation.

7 HAS: hypertension; T2DM: Diabetes mellitus; hsCRP: high sensibility C-reactive protein; TNF- α : tumor
8 necrosis factor- α ; IL: interleukin; LDL: low-density lipoprotein; HDL: high-density lipoprotein; NNRTI:
9 nonnucleoside analogue reverse-transcriptase inhibitor; PI: protease inhibitor.

10

11

1



2

3

4

Figure 1 Spearman rank correlation between adiponectin and carotid intima-media thickness

5

(cIMT), HIV-1 factors, inflammatory and metabolic biomarkers. Plasma levels of adiponectin were

6

negatively correlated with cIMT ($r = -0.319, p = 0.026$), time of HIV-1 diagnosis ($r = -0.372, p = 0.009$), as well

7

as peripheral leukocytes ($r = -0.442, p = 0.002$), interleukin (IL)-6 ($r = -0.370, p = 0.009$), IL-10 ($r = -0.394,$

8

$p = 0.005$), triglycerides ($r = -0.564, p < 0.001$), and insulin ($r = -0.487, p < 0.001$) and a trend toward a

9

negative correlation with tumor necrosis factor (TNF)-α ($r = -0.278, p = 0.053$) in patients infected with

10

HIV-1. Moreover, adiponectin was positively correlated with high-density lipoprotein (HDL)

11

cholesterol ($r = 0.573, p < 0.001$). $r =$ Spearman correlation coefficient; the areas between lines

12

represent 95% confidence intervals of the relationship between the variables.

13

14

15

16

6. CONCLUSÃO

O presente estudo permite as seguintes conclusões:

- Pacientes com HIV-1 apresentaram níveis mais elevados de usPCR, TNF- α , IL-6, IL-10, triglicerídeos e insulina e níveis mais baixos de adiponectina, colesterol total e LDL-C do que os controles, após ajuste por idade, sexo, etnia, circunferência abdominal e uso de hipolipemiantes.

- A cIMT $\geq 0,9$ mm ou placa aterosclerótica nas artérias carótidas foi observada em 24 (48,9%) pacientes infectados pelo HIV-1.

- Níveis diminuídos de adiponectina foram independentemente associados com cIMT $\geq 0,9$ mm, após ajustados pelas possíveis variáveis de confusão e explicaram 12,1% dos resultados da variabilidade da cIMT.

- A idade e o tabagismo foram positivamente associados com cIMT $\geq 0,9$ mm e os níveis de adiponectina foram negativamente associados com cIMT; estas três variáveis, juntas, explicaram 27,3% das alterações dos valores da cIMT.

- Os níveis plasmáticos de adiponectina foram negativamente correlacionados com cIMT, tempo de diagnóstico do HIV-1, leucócitos periféricos, IL-6, IL-10, triglicerídeos e insulina em pacientes infectados pelo HIV-1. Além disso, a adiponectina foi correlacionada positivamente com o HDL-colesterol.

- As variáveis cART, contagem de LT CD4⁺ e a carga viral de HIV-1 não apresentaram associação com a cIMT, estenose e presença de placa.

1 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

2

3 Os resultados deste estudo ressaltam que pacientes com infecção pelo HIV-1 e
4 tratados com cART, pelo menos há cinco anos, apresentam um elevado nível de inflamação,
5 distúrbios metabólicos e aterosclerose subclínica, e que todos esses fatores, juntamente
6 com a idade e o tabagismo, explicam, em parte, o aumento do risco de DCV nesses
7 indivíduos.

8 Nosso estudo apresentou algumas limitações, como os delineamentos transversais e
9 caso-controle, assim como a avaliação da cIMT em uma amostra restrita de indivíduos
10 infectados pelo HIV-1. Nosso estudo não teve poder estatístico adequado para detectar uma
11 correlação entre cIMT com algumas variáveis esperadas, como usPCR e TNF- α . No entanto,
12 os resultados ressaltam o papel potencial dos níveis de adiponectina para identificar
13 pacientes com HIV-1 com risco clínico de aterosclerose e futuros eventos cardiovasculares. A
14 associação negativa entre baixos níveis de adiponectina e cIMT permaneceu significativa
15 mesmo após o ajuste de importantes determinantes dos níveis plasmáticos de adiponectina,
16 como idade, sexo, etnia, circunferência abdominal, HAS, DMT2, dislipidemia e o uso de anti-
17 hipertensivos, hipoglicemiantes e hipolipemiantes.

18 Embora seja um procedimento de custo acessível e não invasivo, a USGD pode não
19 estar disponível em todos os serviços de saúde que atendem PVHA. Portanto, a identificação
20 de biomarcadores laboratoriais, como a adiponectina, que estão associados à cIMT, pode
21 contribuir para o diagnóstico mais rápido e acessível quanto ao custo e métodos disponíveis
22 comercialmente, da aterosclerose subclínica nesses pacientes, que podem se beneficiar de
23 estratégias terapêuticas personalizadas mais precoces e eficazes na prevenção e tratamento
24 de DCV em indivíduos com infecção pelo HIV-1. Com o aumento da expectativa de vida
25 desses pacientes, é muito importante propor uma avaliação sistemática e precoce dos riscos
26 para eventos cardiovasculares nessa população.

27

28

29

30

31

32

1 **REFERENCIAS**

2

3 ADEYEMI, O. *et al.* Metabolic Syndrome in Older HIV-Infected Patients: Data from the CORE50
4 Cohort. **AIDS Patient Care and STDs**. v.22, n.12, p.941-945, 2008.

5 AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes - 2014. **Diabetes Care**,
6 v. 37, S 1, p. 14-80, 2014.

7 ANDEL, M. V.; HEIJBOER, A. C.; DRENT, M. L. Adiponectin and Its Isoforms in Pathophysiology.
8 **Adv Clin Chem**. v. 85, p.115-147, 2018.

9 APPAY, V.; KELLEHER, A. D. Immune activation and immune aging in HIV infection. **Current**
10 **Opinion in HIV and AIDS**, v. 11, n. 2, p. 242–249, 2016.

11 BAKER, J. V. *et al.* Progression of carotid intima-media thickness in a contemporary human
12 immunodeficiency virus cohort. **Clin Infect Dis**. v.53, n.8, p.826-35, 2011.

13 BALDASSARRE, D. *et al.* Carotid artery intima-media thickness measured by ultrasonography in
14 normal clinical practice correlates well with atherosclerosis risk factors. **Stroke**. v. 31, n.10, p.
15 2426-30, 2000.

16 BELTRÁN, L. M. *et al.* Influence of immune activation and inflammatory response on
17 cardiovascular risk associated with the human immunodeficiency virus. **Vascular Health and Risk**
18 **Management**, v.6, n.11, p.35-48, 2015.

19 BONFANTI, P. *et al.* Is Metabolic Syndrome Associated to HIV Infection Per Se? Results from the
20 HERMES Study. **Current HIV Research**, v. 8, n. 2, p. 165–171, 2010.

21 BONGIOVANNI, M. *et al.* Predictive factors of vascular intima media thickness in HIV-positive
22 subjects. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 61, n. 1, p. 195–199, 2008.

23 BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Consenso sobre terapia antirretroviral em adultos. **Brazilian**
24 **Journal of Sexually Transmitted Diseases**, v. 9, n. 1, p. 4, 1997.

25 BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de Tratamento Clínico da Infecção Pelo HIV em Adultos e**
26 **Adolescentes**. 1a edição ed. Brasília: 2001.

27 BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Recomendações para terapia antirretroviral em adultos e**
28 **adolescentes infectados pelo HIV**. Brasília. 2004.

29 BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de tratamento: recomendações para terapia**
30 **antirretroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV**. Brasília. 2008.

31 BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manejo da infecção pelo HIV em adultos**. Brasília, 2008.

32 BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para**
33 **manejo da infecção pelo HIV em adultos**. Brasília, 2013.

34 BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da**
35 **infecção pelo HIV em adultos**. Brasília. 2018.

- 1 BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico: HIV, AIDS**. Brasília: 2018.
- 2 CHAMBLESS, L. E. *et al.* Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall
3 thickness and major risk factors: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study, 1987-
4 1993. **American Journal of Epidemiology**, v.146, n.6, p.483-494, 1997.
- 5 CHOW, F. C. *et al.* Comparison of ischemic stroke incidence in HIV-infected and non-HIV-infected
6 patients in a US health care system. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v.60,
7 n4, p.351-358, 2012.
- 8 CHOW, D. C. *et al.* Non-classical monocytes predict progression of carotid artery bifurcation
9 intima-media thickness in HIV-infected individuals on stable antiretroviral therapy. **HIV Clinical**
10 **Trials**, v. 17, n. 3, p. 114–122, 2016.
- 11 CUNNINGHAM, W. E. *et al.* Prevalence and predictors of highly active antiretroviral therapy use
12 in patients with HIV infection in the United States. **Journal of Acquired Immune Deficiency**
13 **Syndromes**, v.25, n.2, p.115-123, 2000.
- 14 CURRIER, J. S., *et al.* Coronary heart disease in HIV-infected individuals. **Journal of Acquired**
15 **Immune Deficiency Syndromes**, v. 33, n. 4, p.506-512, 2003.
- 16 CURRIER, J. S., *et al.* Epidemiological evidence for cardiovascular disease in HIV-infected patients
17 and relationship to highly active antiretroviral therapy. **Circulation**, v.118, n.2, p.e29-e35, 2008.
- 18 D'ABRAMO, A. *et al.* Immune activation, immunosenescence, and osteoprotegerin as markers of
19 endothelial dysfunction in subclinical HIV-associated atherosclerosis. **Mediators of**
20 **Inflammation**, v. 2014, 2014.
- 21 DE GAETANO DONATI, K. *et al.* HIV infection, HAART, and endothelial adhesion molecules:
22 Current perspectives. **Lancet Infectious Diseases**, v. 4, n. 4, p. 213–222, 2004.
- 23 DEEKS, S. G.; PHILLIPS, A. N. HIV infection, antiretroviral treatment, ageing, and non-AIDS related
24 morbidity. **BMJ**, v.338, p. a3172, 2009.
- 25 DESVARIEUX, M. *et al.* Infection duration and inflammatory imbalance are associated with
26 atherosclerotic risk in HIV-infected never-smokers independent of antiretroviral therapy. **Aids**, v.
27 27, n. 16, p. 2603–2614, 2013.
- 28 D'ETTORRE, G. *et al.* What happens to cardiovascular system behind the undetectable level of
29 HIV viremia? **AIDS Research and Therapy**, v. 13, n. 1, p. 21, 2016.
- 30 DOUEK, D. C. Immune activation, HIV persistence, and the cure. **Topics in Antiviral Medicine**, v.
31 21, n. 4, p. 128–32, 2013.
- 32 DURAND, M. *et al.* Association between HIV infection, antiretroviral therapy, and risk of acute
33 myocardial infarction: A cohort and nested case-control study using Québec's Public Health
34 Insurance database. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v.57, n.3, p.245-253,
35 2011.
- 36 ECKARD, A. R. *et al.* Cardiovascular Disease, Statins, and HIV. **Journal of Infectious Diseases**, v.
37 214, n. suppl 2, p. S83–S92, 2016.

- 1 ERRIDGE, C. The roles of toll-like receptors in atherosclerosis. **Journal of Innate Immunity**, v. 1,
2 n. 4, p. 340–349, 2009.
- 3 ESTRADA, V.; PORTILLA, J. Dyslipidemia related to antiretroviral therapy. **AIDS Reviews**, v. 13, n.
4 1, p. 49–56, 2011.
- 5 FALASCA, K. *et al.* Metabolic syndrome and cardiovascular risk in HIV-infected patients with
6 lipodystrophy. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v.20, n.3, p.519-
7 527, 2007.
- 8 FALASCA, K. *et al.* Cystatin C, Adipokines and Cardiovascular Risk in HIV Infected Patients.
9 **Current HIV Research**, v. 8, n. 5, p. 405–410, 2010.
- 10 FARHI, L.; DE LIMA, D. B.; CUNHA, C. B. Dislipidemia em pacientes HIV/AIDS em uso de
11 antirretrovirais num hospital universitário, Rio de Janeiro, Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e**
12 **Medicina Laboratorial**, v. 44, n. 3, p. 175–184, 2008.
- 13 FEINSTEIN, M. J. *et al.* Characteristics, Prevention, and Management of Cardiovascular Disease in
14 People Living With HIV: A Scientific Statement from the American Heart Association. **Circulation**,
15 v.140, n.2, p. 1–27, 2019.
- 16 FUNDERBURG, N. T. Markers of coagulation and inflammation often remain elevated in ART-
17 treated HIV-infected patients. **Current Opinion in HIV and AIDS**, v.9, n.1, p.80-86. 2014.
- 18 GASBARRINO, K. *et al.* Circulating adiponectin and carotid intima-media thickness: A systematic
19 review and meta-analysis. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 65, n. 7, p. 968–986, 2016.
- 20 GOUGEON, M. L. *et al.* Adipocytes targets and actors in the pathogenesis of HIV-associated
21 lipodystrophy and metabolic alterations. **Antivir Ther.** v.9, n.2, p.161-177, 2004.
- 22 GRUNFELDT, C.; JENSEN, P.; FEINGOLD, R. Lipid, Lipoproteins, Triglyceride clearance and
23 Cytokine in Human Immunodeficiency Syndrome. **Journal of Clinical Endocrinology and**
24 **Metabolism**, v. 74, n. 5, p. 1045– 1052, 1992.
- 25 GUARALDI, G. *et al.* Premature age-related comorbidities among HIV-infected persons compared
26 with the general population. **Clinical Infectious Diseases**, v.53, n.11, p.1120-1126, 2011.
- 27 GUIMARÃES, M. M. M. *et al.* Distribuição da gordura corporal e perfis lipídico e glicêmico de
28 pacientes infectados pelo HIV. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n.
29 1, p. 42–51, 2007.
- 30 HANNA, D. B. *et al.* HIV Infection Is Associated With Progression of Subclinical Carotid
31 Atherosclerosis. **Clinical infectious disease.** v. 61, n. 4, p. 640–50, 2015.
- 32 HILEMAN, C. O. *et al.* Changes in oxidized lipids drive the improvement in monocyte activation
33 and vascular disease after statin therapy in HIV. **Aids**, v. 30, n. 1, p. 65–73, 2016.
- 34 HSUE, P. Y. *et al.* Carotid Intima-Media Thickness Progression in HIV-Infected Adults Occurs
35 Preferentially at the Carotid Bifurcation and Is Predicted by Inflammation. **Journal of the**
36 **American Heart Association**, v. 1, n. 2, p. 1–12, 2012.

- 1 HSUE, P. Y. Mechanisms of Cardiovascular Disease in the Setting of HIV Infection. **Canadian**
2 **Journal of Cardiology**, v. 35, n. 3, p. 238–248, 2019.
- 3 HUI, E. *et al.* Hypoadiponectinemia As an Independent Predictor for the Progression of Carotid
4 Atherosclerosis: A 5-Year Prospective Study. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, v.12,
5 n.10, p.517-522, 2014.
- 6 INDUMATI, V. *et al.* Comparison of serum lipid profile in HIV positive patients on art with art
7 naïve patients. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 8, n.10, p. CC06-CC09, 2014.
- 8 ISLAM, F. M. *et al.* Relative risk of cardiovascular disease among people living with HIV: A
9 systematic review and meta-analysis. **HIV Medicine**, v. 13, n. 8, p. 453-68, 2012.
- 10 JAMES, P. A. *et al.* 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in
11 adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC
12 8). **JAMA**, v. 311, n. 5, p. 507–20, 2014.
- 13 JOHNSON, E. L. *et al.* Standards of medical care in diabetes—2019. **Clinical Diabetes**, v.42, S.01,
14 2019.
- 15 KATSIKI, N.; MANTZOROS, C.; MIKHAILIDIS, D. P. Adiponectin, lipids and atherosclerosis. **Current**
16 **Opinion in Lipidology**, v. 28, n. 4, p. 347–354, 2017.
- 17 KERSHAW, E. E.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. **Journal of Clinical**
18 **Endocrinology and Metabolism**, v.89, n.6, p.2548-2556, 2004.
- 19 KHIANGTE, L. *et al.* A study of serum lipid profile in human immunodeficiency virus (HIV) infected
20 patients. **Journal, Indian Academy of Clinical Medicine**, v. 8, n. 4, p. 307–311, 2007.
- 21 KIM, D. J. *et al.* Multimorbidity patterns in HIV-infected patients: The role of obesity in chronic
22 disease clustering. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v.61, n.5, p.600-605,
23 2012.
- 24 KITAGAWA, T. *et al.* Characterization of Noncalcified Coronary Plaques and Identification of
25 Culprit Lesions in Patients with Acute Coronary Syndrome by 64-Slice Computed Tomography.
26 **JACC: Cardiovascular Imaging**, v.2, n.2, p.153-160, 2009.
- 27 KOTLER, D. P. *et al.* Studies of body composition and fat distribution in HIV-infected and control
28 subjects. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome Human Retrovirology**. v.20, n.3,
29 p.228-237, 1999.
- 30 KOTLER, D. P. HIV and antiretroviral therapy: lipid abnormalities and associated cardiovascular
31 risk in HIV-infected patients. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 49 Suppl 2,
32 p. 79–85, 2008.
- 33 KRIKKE, M. *et al.* Greater carotid intima media thickness at a younger age in HIV-infected
34 patients compared with reference values for an uninfected cohort. **HIV Medicine**, v. 18, n. 4, p.
35 275–283, 2017.
- 36 KUMEDA, Y. *et al.* Increased thickness of the arterial intima-media detected by ultrasonography
37 in patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis and Rheumatism**, v. 46, n. 6, p. 1489–1497, 2002.

- 1 LAMBERT, C. T. *et al.* HIV, highly active antiretroviral therapy and the heart: a cellular to
2 epidemiological review. **HIV Medicine**, v. 17, n. 6, p. 411–424, 2016.
- 3 LEINONEN, M.; SAIKKU, P. Evidence for infectious agents in cardiovascular disease and
4 atherosclerosis. **Lancet Infectious Disease**, v.2, n.1, p.11-17, 2002.
- 5 LONGENECKER, C. T.; HOIT, B. D. Imaging atherosclerosis in HIV: Carotid intima-media thickness
6 and beyond. **Translational Research**, v. 159, n. 3, p. 127–139, 2012.
- 7 LONGENECKER, C. T.; SULLIVAN, C.; BAKER, J. V. Immune activation and cardiovascular disease in
8 chronic HIV infection. **Current Opinion in HIV and AIDS**, v.11, n.2, p.216-225, 2016.
- 9 LONGENECKER, C. T. *et al.* Arterial stiffness in HIV-infected youth and associations with HIV-
10 related variables. **Virulence**, v. 8, n. 7, p. 1265–1273, 2017.
- 11 LORENZ, M. W. *et al.* Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media
12 thickness: A systematic review and meta-analysis. **Circulation**, v. 115, n. 4, p. 459–467, 2007.
- 13 LORENZ, M. W. *et al.* Carotid intima-media thickness progression to predict cardiovascular
14 events in the general population (the PROG-IMT collaborative project): A meta-analysis of
15 individual participant data. **The Lancet**, v. 379, n. 9831, p. 2053–2062, 2012.
- 16 LUI, G. *et al.* Progression of Atherosclerosis in HIV-Infected Individuals - Prospective Data from an
17 Asian Cohort. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 75, n. 2, p. 198–202, 2017.
- 18 MANCIA, G. *et al.* 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: The
19 Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of
20 Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). **European Heart Journal**, v.
21 34, n. 28, p. 2159–2219, 2013.
- 22 MARTIN, G. E. *et al.* Age-Associated Changes in Monocyte and Innate Immune Activation
23 Markers Occur More Rapidly in HIV Infected Women. **PLoS ONE**, v.8, n.1, p. e55279, 2013.
- 24 MOSEPELE, M. *et al.* Cardiovascular disease risk prediction by the American College of Cardiology
25 (ACC)/American Heart Association (AHA) Atherosclerotic Cardiovascular Disease (ASCVD) risk
26 score among HIV-infected patients in sub-Saharan Africa. **PLoS ONE**, v. 12, n. 2, p. 1–10, 2017.
- 27 MOSEPELE, M. *et al.* HIV disease is associated with increased biomarkers of endothelial
28 dysfunction despite viral suppression on long-term antiretroviral therapy in Botswana.
29 **Cardiovascular Journal of Africa**, v. 29, n. 3, p. 155–161, 2018.
- 30 NEZU, T. *et al.* Carotid Intima-Media Thickness for Atherosclerosis. **Journal of atherosclerosis
31 and thrombosis**, v. 23, n. 1, p. 18–31, 2016.
- 32 NOU, E.; LO, J.; GRINSPOON, S. K. Inflammation, immune activation, and cardiovascular disease
33 in HIV. **AIDS**, v.30, n.10, p. 1495–1509, 2016.
- 34 NTAIOS, G. *et al.* Adipokines as mediators of endothelial function and atherosclerosis.
35 **Atherosclerosis**, v. 227, n. 2, p. 216–221, 2013.
- 36 NUMANO, F. *et al.* Inflammation and Atherosclerosis: Atherosclerotic Lesions in Takayasu
37 Arteritis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 902, n. 1, p. 65–76, 2006.

- 1 OH, J.; HEGELE, R. A. HIV-associated dyslipidaemia: pathogenesis and treatment. **Lancet**
2 **Infectious Diseases**, v. 7, n. 12, p. 787–796, 2007.
- 3 O’LEARY, D. H. *et al.* Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial
4 infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group.
5 **New England Journal of Medicine**, v.340, n.1, p.14-22, 1999.
- 6 ORLANDO, A. *et al.* Adiponectin and Cardiovascular Risk. From Pathophysiology to Clinic: Focus
7 on Children and Adolescents. **International Journal of Molecular Sciences**. v.20, n.13, pp.14,
8 2019.
- 9 PACHECO, A. G. *et al.* HIV infection is not associated with carotid intima-media thickness in
10 Brazil: A cross-sectional analysis from the INI/ELSA-Brazil study. **PLoS ONE**, v. 11, n. 7, p. 1–12,
11 2016.
- 12 PAPITA, A. *et al.* Arterial stiffness and carotid intima-media thickness in HIV infected patients.
13 **Medical Ultrasonography**, v. 13, n. 2, p. 127–134, 2011.
- 14 PARRA, S. *et al.* Non concordance between subclinical atherosclerosis and the calculated
15 Framingham risk score in HIV-infected patients: Relationships with serum markers of oxidation
16 and inflammation. **HIV Medicine**, v. 11, n. 4, p. 225–231, 2010.
- 17 PENA, S. D. J. *et al.* The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of
18 Brazil is more uniform than expected. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, p. e17063, 2011.
- 19 PICONI, S. *et al.* Atherosclerosis is associated with multiple pathogenic mechanisms in HIV-
20 infected antiretroviral-naive or treated individuals. **AIDS**. v. 27, n. 3, p. 381–9, 2013.
- 21 PIGNOLI, P. *et al.* Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with
22 ultrasound imaging. **Circulation**, v.74, n.6, p.1399-1406, 1986.
- 23 PIRS, M. *et al.* Relationship between markers of endothelial dysfunction and inflammation and
24 subclinical atherosclerosis in HIV-infected male patients below 55 years of age. **Acta**
25 **Dermatovenerologica Alpina, Pannonica et Adriatica**, v. 23, n. 3, p. 49–52, 2014.
- 26 POLAK, J. F.; O’LEARY, D. H. Carotid Intima-Media Thickness as Surrogate for and Predictor of
27 CVD. **Global Heart**, v. 11, n. 3, p. 295- 312.e3, 2016.
- 28 RACHID, M.; SCHECHTER, M. **Manual de HIV/Aids**. 9a. ed. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2008.
- 29 ROSVALL, M. *et al.* Incident coronary events and case fatality in relation to common carotid
30 intima-media thickness. **Journal of Internal Medicine**, v.257, n.5, p.430-437, 2005.
- 31 SANTOS, E. H. S.; DOS SANTOS NETO, P. J.; SANTOS, I. D. S. Carotid intima-media thickness in the
32 Brazilian longitudinal study of adult health (ELSA-brasil): A narrative review. **Sao Paulo Medical**
33 **Journal**, v. 136, n. 1, p. 64–72, 2018.
- 34 SHAH, A. S. V. *et al.* Global Burden of Atherosclerotic Cardiovascular Disease in People Living
35 with the Human Immunodeficiency Virus: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Circulation**, v.
36 138, n. 11, p. 1100-1112, 2018.

- 1 SICO, J. J. *et al.* HIV status and the risk of ischemic stroke among men. **Neurology**, v. 84, n. 19, p.
2 1933-1940, 2015.
- 3 STEIN, J. H. *et al.* Ultrasonographic measures of cardiovascular disease risk in antiretroviral
4 treatment-naive individuals with HIV infection. **AIDS**, v. 27, n. 6, p. 929–937, 2013.
- 5 SUBRAMANYA, V. *et al.* Inflammatory biomarkers and subclinical carotid atherosclerosis in HIV-
6 infected and HIV-uninfected men in the Multicenter AIDS Cohort Study. **PLoS ONE**, v. 14, n. 4, p.
7 1–17, 2019.
- 8 THE STRATEGIES FOR MANAGEMENT OF ANTIRETROVIRAL THERAPY (SMART) STUDY GROUP *et al.* CD4+
9 Count-Guided Interruption of Antiretroviral Therapy. **New England Journal of Medicine**,
10 v. 355, n. 22, p. 2283–2296, 2006.
- 11 Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection,
12 Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final
13 report. **Circulation**, v. 106, n. 25, p. 3143–421, 2002.
- 14 TORRIANI, F. J. *et al.* Endothelial Function in Human Immunodeficiency Virus-Infected
15 Antiretroviral-Naive Subjects Before and After Starting Potent Antiretroviral Therapy. The ACTG
16 (AIDS Clinical Trials Group) Study 5152s. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 52, n.
17 7, p. 569-576, 2008.
- 18 TOUBOUL, P. J. *et al.* Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-
19 2006-2011). **Cerebrovascular Diseases**, v. 34, n. 4, p. 290-296, 2012.
- 20 TRIANT, V. A. *et al.* Increased acute myocardial infarction rates and cardiovascular risk factors
21 among patients with human immunodeficiency virus disease. **Journal of Clinical Endocrinology**
22 **and Metabolism**, v. 92, n. 7, p. 2506–2512, 2007.
- 23 TRUJILLO, M. E.; SCHERER, P. E. Adiponectin - Journey from an adipocyte secretory protein to
24 biomarker of the metabolic syndrome. **Journal of Internal Medicine**, v. 257, n. 2, p. 167-175,
25 2005.
- 26 UNAIDS. **Global Aids Update. Communities at the centre.** Disponível em:
27 <https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2019-global-AIDS-update_en.pdf>.
28 Acesso em 01 ago 2019a.
- 29 UNAIDS. **Relatório Informativo - Atualização Global da aids 2019.** Disponível em:
30 <https://unaids.org.br/estatisticas>. Acesso em: 01 ago 2019b.
- 31 U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. **Guidelines for the use of antiretroviral**
32 **agents in HIV-1-infected adults and adolescents.** Department of Health and Human Services. *E-*
33 *book.* Disponível em: <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/Adultan>. Acesso em: 01 ago
34 2019.
- 35 VACHIAT, A. *et al.* **HIV and Ischemic Heart Disease.** v. 69, n. 1, p. 73-82, 2017.
- 36 VALENTE, A. M. M. *et al.* Alterações metabólicas da síndrome lipodistrófica do HIV. **Arquivos**
37 **Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 49, n.1 6, 2006.

- 1 VAN VONDEREN, M. G. A. et al. Carotid intima-media thickness and arterial stiffness in HIV-
2 infected patients: The role of HIV, antiretroviral therapy, and lipodystrophy. **Journal of Acquired**
3 **Immune Deficiency Syndromes**, v. 50, n. 2, p. 153–161, 2009.
- 4 VAN WIJK, J. P. H.; CABEZAS, M. C. Hypertriglyceridemia, metabolic syndrome, and
5 cardiovascular disease in HIV-infected patients: Effects of antiretroviral therapy and adipose
6 tissue distribution. **International Journal of Vascular Medicine**, v. 2012, pp.13, 2012.
- 7 VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Veronesi – Tratado de Infectologia**. 3ª edição, Atheneu: São Paulo:
8 2013.
- 9 VOS, A. G. et al. Pro-Inflammatory Markers in Relation to Cardiovascular Disease in HIV Infection.
10 A Systematic Review. **PloS One**, v. 11, n. 1, p. e0147484, 2016.
- 11 WATERER, G. W.; WUNDERINK, R. G. Science review: Genetic variability in the systemic
12 inflammatory response. **Critical Care**, v. 7, n. 4, p. 308–314, 2003.
- 13 WILLIAMS, B., *et al.* 2018 ESC / ESH Guidelines for the management of arterial hypertension.
14 **European Heart Journal**. v.39, n.33, p.3021-3104, 2018.
- 15 WILLIG, A. L.; OVERTON, E. T. Metabolic consequences of HIV: Pathogenic insights. **Current**
16 **HIV/AIDS Reports**, v. 11, n. 1, p. 35–44, 2014.
- 17 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for**
18 **treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach**. 2ª Ed.
19 Geneva: ONU: 2016. *E-book*. Disponível em: [https://unaids.org.br/wp-](https://unaids.org.br/wp-content/uploads/2016/12/9789241549684_eng.pdf)
20 [content/uploads/2016/12/9789241549684_eng.pdf](https://unaids.org.br/wp-content/uploads/2016/12/9789241549684_eng.pdf). Acesso em: 01 ago 2019.
- 21 YANAI, H.; YOSHIDA, H. Beneficial effects of adiponectin on glucose and lipid metabolism and
22 atherosclerotic progression: Mechanisms and perspectives. **International Journal of Molecular**
23 **Sciences**, v. 20, n. 5, p. 1–25, 2019.

24

25

1

2

3

4

5

6

7

8

ANEXOS

9

10

11

12

13

14

15

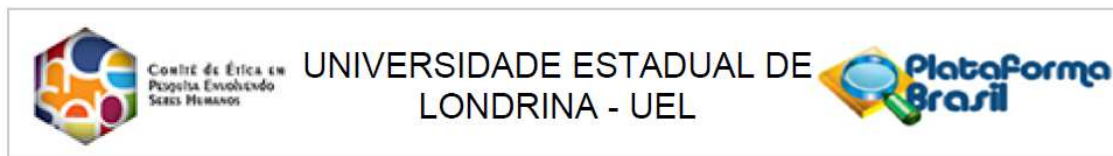
16

17

18

19

1 ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Associação entre marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos com as placas carotídeas examinadas com doppler em pacientes vivendo com HIV/AIDS

Pesquisador: Edna Maria Vissoci Reiche

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 73547417.0.0000.5231

Instituição Proponente: CCS - Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicologias

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.395.912

Apresentação do Projeto:

Na fase inicial do estudo será realizado um estudo observacional e transversal com dois grupos de indivíduos, um grupo de PVHA (Portadores do Virus HIV/AIDS) e outro de indivíduos controles saudáveis, em que os marcadores inflamatórios, anti- inflamatórios e metabólicos serão descritos e comparados. Posteriormente, estes marcadores serão avaliados no grupo de PVHA categorizados de acordo com as características morfológicas da placa de aterosclerose, grau de estenose e ecogenicidade da placa de aterosclerose. Serão avaliados indivíduos adultos, de ambos os sexos e com diagnóstico de infecção pelo HIV-1 ou AIDS há pelo menos 5 anos, acompanhados no AEHU/UEL no período de 12 meses. Trata-se de uma amostra consecutiva, de conveniência de tempo e local, com a inclusão, prospectiva de aproximadamente 100 pacientes com sorologia positiva para antiHIV-1 e tempo de doença de pelo menos 5 anos, atendidos no AEHU/UEL. Como grupo controle, serão utilizadas as amostras de material biológico de 200 indivíduos saudáveis que foram previamente inseridos no projeto de pesquisa já aprovado pelo CEP/UEL sob o Parecer 294/2011. Estes participantes de pesquisa são constituídos por doadores de sangue fidelizados do Hemocentro Regional de Londrina e indivíduos saudáveis da população em geral que já assinaram o TCLE para o projeto de pesquisa acima citado. As informações sobre os dados demográficos, fatores de estilo de vida e história médica serão obtidas por avaliação clínica com a

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Telefone: (43)3371-5455

Município: LONDRINA

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br



Conselho de Ética em
Pesquisa envolvendo
Serres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 2.395.912

aplicação de um questionário padrão respondido pelo paciente ou por seus responsáveis. Os dados serão também, obtidos por meio de consulta aos prontuários médicos e à base de dados LABHOS do Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do HU/UEL. A duração da doença e as terapias utilizadas serão registradas para cada paciente. Os participantes serão questionados quanto ao uso de dieta específica, medicamentos para tratamento da hiperlipidemia, hipertensão, hiperglicemia ou suplementos antioxidantes e consumo de álcool. O peso corporal será medido com aproximação de 0,1 quilograma (kg) utilizando uma balança eletrônica, com os indivíduos vestindo roupas leves, sem sapatos e no período da manhã. A altura será medida com uma aproximação de 0,1 centímetro (cm) por um estadiômetro. O índice de massa corporal (IMC) será calculado como peso (kg) dividido pela altura (m) ao quadrado. A circunferência abdominal será mensurada e expressa em cm. Três aferições de pressão arterial serão realizadas com um intervalo de um minuto com o paciente sentado. A média destas aferições, expressas em mmHg, será utilizada na análise dos dados. PAS 130 mmHg e PAD 90 mmHg ou uso de anti hipertensivo serão os critérios considerados para definir hipertensão. Presença de DM2 será definida como glicose em jejum 100 mg/dL, e não-jejum 200 mg/dL e/ou o uso de medicamentos antidiabéticos. Dislipidemia será definida pela presença de uma ou mais das concentrações anormais de lipídeos no soro, como colesterol total 200 mg/dL, LDL 130 mg/dL; colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL) <40 mg/dL. O exame de USGD de carótidas será realizado pelo no HU/UEL. Todos os participantes da pesquisa serão avaliados pelo mesmo examinador, colaborador deste estudo. Os resultados serão expressos de acordo com o grau de estenose, espessura da camada médio-intima da carótida interna e ecogenicidade da placa. Os pacientes serão classificados de acordo com as características morfológicas da placa, grau de estenose e ecogenicidade da placa de aterosclerose. Serão incluídos todos os pacientes, de ambos os sexos, adultos, maiores de 18 anos, acompanhados no AEHU/UEL no período de 12 meses, com diagnóstico de HIV/Aids há pelo menos 5 anos, em uso de terapia antirretroviral, que consentirem previamente sua participação voluntária no estudo e assinarem o TCLE. Na impossibilidade de o paciente manifestar seu consentimento, sua participação deverá ser autorizada pelos seus responsáveis por meio da assinatura do TCLE. Serão excluídos os pacientes que: apresentem processo inflamatório ou infeccioso em tratamento no momento da avaliação, que façam uso crônico de corticosteróides ou imunossupressores, portadores de doença renal crônica, hepatopatia crônica, neoplasias e doença de Alzheimer, que apresentaram infarto do miocárdio, acidente vascular encefálico, pós-operatório imediato, trauma nos últimos 30 dias. Uma primeira hipótese deste estudo é que indivíduos com maior resposta inflamatória e alterações metabólicas, demonstradas pela elevação

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

CEP: 86.057-970

UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br

1

2



Conselho de Ética em
Pesquisa Envolvendo
Serres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 2.395.912

de marcadores inflamatórios e metabólicos, respectivamente, além de maior carga viral circulante, apresentariam maiores alterações na cIMT, com a presença de placas de aterosclerose e maior grau de estenose das mesmas. Esta associação indicaria que PVHA que apresentarem alterações nestes marcadores apresentariam maior chance de ocorrência de aterosclerose, e por consequente, maior risco de DCV. Uma segunda hipótese é que a diminuição dos níveis de marcadores anti-inflamatórios pode ser também um dos mecanismos moleculares envolvidos na formação de aterosclerose. Sendo estas duas hipóteses aceitas, o processo inflamatório e as alterações metabólicas poderão ser importantes alvos terapêuticos para o tratamento de PVHA com aterosclerose ainda subclínica.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Analisar a associação entre alterações na resposta inflamatória, anti-inflamatória e metabólica com a doença carotídea aterosclerótica em um grupo de pacientes com sorologia positiva para HIV-1, atendidos no Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina. **Objetivos Secundários:** Determinar os níveis séricos de marcadores inflamatórios, antiinflamatórios e metabólicos em um grupo de pacientes com sorologia positiva para HIV-1 e controles saudáveis; Determinar a espessura da camada íntima média da carótida, grau de estenose e ecogenicidade da placa de aterosclerose em um grupo de pacientes com sorologia positiva para HIV-1; Determinar a associação entre as alterações na resposta inflamatória, anti-inflamatória e metabólica com a aterosclerose de carótidas internas avaliadas por USGD, segundo o grau de estenose e ecogenicidade da placa de aterosclerose em pacientes HIV-1 positivos; Determinar a associação entre as alterações na resposta inflamatória, anti-inflamatória e metabólica, o grau de estenose e ecogenicidade da placa de aterosclerose com o tempo de doença, terapia antirretroviral utilizada, carga viral e contagem de células T CD4+ na avaliação do paciente.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo a pesquisadora não há riscos para os indivíduos inseridos no estudo. Nos pacientes, será realizado um exame não invasivo de ultrassonografia com doppler da carótida para avaliar a presença e a espessura de placas de aterosclerose. O exame é indolor e não usa contrastes, não trazendo risco ao paciente. O sangue que será coletado para a pesquisa será parte da mesma coleta de exames de rotina que será realizada independentemente de sua participação ou não no estudo e desta forma, não acarreta em nenhum risco adicional. A coleta de sangue venoso será realizada por profissionais treinados do HU/Uel e pode ocasionar sinais decorrentes da punção venosa e consiste em dor no local da punção venosa ou pequeno hematoma e, muito raramente,

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

CEP: 86.057-970

UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br

1
2
3



Comitê de Ética em
Pesquisa Envolvendo
Serres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 2.395.912

vermelhidão ou infecção local. Mesmo sendo mínimos, caso ocorra algum tipo de desconforto o participante será prontamente atendido e amparado pelos farmacêuticos responsáveis pela coleta de sangue e um dos pesquisadores deste estudo.

Os benefícios esperados são um melhor conhecimento das alterações inflamatórias e do metabolismo associadas com a placa de aterosclerose na carótida que poderá ser uma alternativa precoce e simples de antever a evolução de doença cardiovascular nos pacientes vivendo com HIV/Aids a fim de auxiliar na decisão terapêutica destes pacientes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora apresentou folha de rosto e autorização da instituição devidamente assinadas. O cronograma está adequado. O TCLE foi apresentado em forma de convite e está adequado. O orçamento prevê os kits dos exames e a pesquisadora declara que o exame de imagem faz parte da rotina de atendimento. Apresentou também Termos de confidencialidade e sigilo e prevê o armazenamento do material biológico.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências ou inadequações.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_945845.pdf	01/11/2017 22:58:01		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Parecer_HU_Elizabeth_Ursi.pdf	01/11/2017 15:31:14	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Outros	Resposta_pendencias.pdf	01/11/2017 15:27:44	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Folha de Rosto	Nova_folha_rosto.PDF	01/11/2017 15:26:19	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Comite_de_Etica.pdf	20/06/2017 14:46:36	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Outros	Declara_Sigilio_Dados.PDF	20/06/2017 10:16:52	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

CEP: 86.057-970

UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br

1

2



Conselho de Ética em
Pesquisa Envolvendo
Serres Humanos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL



Continuação do Parecer: 2.395.912

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	20/06/2017 10:16:03	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declara_Banco_Material.PDF	20/06/2017 10:15:44	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LONDRINA, 23 de Novembro de 2017

**Assinado por:
Rosana Lopes
(Coordenador)**

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

CEP: 86.057-970

UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

E-mail: cep268@uel.br

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

APÊNDICES

1 APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

2 3 **“ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS, ANTI-INFLAMATÓRIOS E** 4 **METABÓLICOS COM ATEROSCLEROSE SUBCLÍNICA EM PACIENTES COM VIVENDO COM** 5 **HIV/AIDS”**

6
7 Prezado(a) Senhor(a):

8 Gostaríamos de convidá-lo (a) para participar da pesquisa **“ASSOCIAÇÃO ENTRE**
9 **MARCADORES INFLAMATÓRIOS, ANTI-INFLAMATÓRIOS E METABÓLICOS COM**
10 **ATEROSCLEROSE SUBCLÍNICA EM PACIENTES VIVENDO COM HIV/AIDS”**, a ser realizada no
11 Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário da Universidade Estadual de
12 Londrina (AEHU/UEL)”. O objetivo da pesquisa é “analisar a associação entre alterações na
13 resposta inflamatória e no metabolismo de gorduras e de açúcar com a presença de placas
14 de aterosclerose na carótida em um grupo de pacientes com sorologia positiva para HIV,
15 atendidos no AEHU/UEL”. Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte
16 forma: sua participação será voluntária para fornecer informações quanto ao sexo, idade,
17 etnia (raça), peso, altura, pressão arterial, uso de medicamentos, hábitos de vida como
18 atividade física, uso de álcool e fumo. Será realizado um exame de ultrassonografia com
19 *doppler* da carótida para avaliar a presença e a espessura de placas de aterosclerose.

20 O (a) senhor(a) participará com a coleta de uma amostra de sangue periférico (20 mL)
21 para a realização de exames laboratoriais que fazem parte da rotina de atendimento aos
22 pacientes, como hemograma, provas de coagulação, avaliação dos lipídeos (como colesterol
23 e triglicerídeos), glicose, insulina e provas inflamatórias.

24 Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo o (a) senhor (a):
25 recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete
26 qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão
27 utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e
28 confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Solicitamos ainda sua autorização
29 para que após o término do presente estudo, o material de sangue coletado possa ser
30 armazenado em *freezer* no Setor de Imunologia Clínica do HU/UEL, identificado de maneira
31 sigilosa e sob a responsabilidade da equipe de pesquisadores, para ser utilizada em futuros
32 estudos sobre os fatores de risco associados a formação de aterosclerose a serem

1 desenvolvidos por esta mesma equipe de pesquisadores. Caso não autorize, informamos que
2 o material coletado para este estudo, será descartado após o término da presente pesquisa.

3 Esclarecemos ainda, que o(a) senhor(a) não pagará e nem será remunerado(a) por
4 sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa
5 serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação.

6 Os benefícios esperados são um melhor conhecimento das alterações inflamatórias e
7 do metabolismo associadas com a placa de aterosclerose na carótida que poderá ser uma
8 alternativa precoce e simples de antever a evolução de doença cardiovascular nos pacientes
9 vivendo com HIV/Aids a fim de auxiliar na decisão terapêutica destes pacientes.

10 Quanto aos riscos, informamos que sua participação não acarretará em qualquer
11 risco à sua saúde nem alteração de qualquer um dos seus tratamentos. A ultrassonografia
12 com *doppler* de carótida é um exame indolor e não invasivo que não apresenta risco ao
13 paciente. O sangue que será coletado para a pesquisa será parte da mesma coleta de
14 exames de rotina que será realizada independentemente de sua participação ou não no
15 estudo e desta forma, não vos acarreta em nenhum risco adicional. A coleta de sangue
16 venoso será realizada por profissionais treinados do HU/UEL e pode ocasionar sinais
17 decorrentes da punção venosa e consiste em dor no local da punção venosa ou pequeno
18 hematoma e, muito raramente, vermelhidão ou infecção local. Mesmo sendo mínimos, caso
19 ocorra algum tipo de desconforto o participante será prontamente atendido e amparado
20 pelos farmacêuticos responsáveis pela coleta de sangue e um dos pesquisadores deste
21 estudo.

22 Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá
23 nos contatar a professora e pesquisadora Edna Maria Vissoci Reiche, no Laboratório de
24 Análises Clínicas do HU/UEL, na avenida Robert Koch, 60, Vila Operária, pelos telefones 43-
25 3371-2321 (laboratório) ou 43-9991-1467 (celular), ou ainda por email
26 (reiche@sercomtel.com.br), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres
27 Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório
28 Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br.

29 Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente
30 preenchida, assinada e entregue ao (à) senhor(a).

31

32

Londrina, ___ de _____ de 201_.

1

2 Pesquisador Responsável

3 Professora Dra. Edna Maria Vissoci Reiche

4 RG: 1.242.514-7 (SSP-PR)

5 Telefone: 43-3371-2321

6

7

8 _____, tendo sido devidamente esclarecido sobre os
9 procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita
10 acima.

11

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

12

13

Data: _____

14

1 **APÊNDICE 2 - QUESTIONÁRIO PARA COLETA DE DADOS DOS INDIVÍDUOS**

2 Data de inclusão ____/____/____ Data da coleta ____/____/____ Horário ____:____

3 **IDENTIFICAÇÃO**

4 Nome: _____ ID _____

5 Idade: _____ anos Sexo: () M () F Etnia _____

6 Antecedentes Mórbitos Pessoais: () HAS () DM tipo 1

7 () Dislipidemia () DM tipo 2

8 () Doença Autoimune () Doença Hematológica

9 () Doença Infecciosa () AVC () IAM () Outro: ____

10 Medicamentos de uso contínuo: _____

11 () anti-hipertensivo () hipoglicemiante () hipolipemiante () anticoagulante

12 () antioxidantes () vitaminas () Outro: _____

13 _____

14 _____

15 Terapia antirretroviral e tempo de uso:

16 _____

17 _____

18 Data do diagnóstico: _____

19 Últimos exames (CD4 e carga viral):

20 ____/____/____ _____

21 ____/____/____ _____

22 Antecedentes Mórbitos Familiares: () HAS () DM tipo 2 () Dislipidemia

23 () AVC () IAM () Morte súbita

24 () DCV () Outro: _____

25 Condições e hábitos de vida: () Tabagismo () Etilismo () Sedentarismo

26 Atividade física:

27 () SIM () 1x semana () 2x semana () 3x semana () > 3 x semana

28 () NÃO

29 Exposição solar:

30 Dieta: () Normal () Vegano () Vegetariano () Restrição, qual? _____

31 História Clínica e Exame Físico da Entrada (*baseline*):

32 Peso (Kg) _____ Altura (m) _____ IMC (Kg/m²) _____

33 Pressão arterial (mmHg) _____ Circunferência abdominal (cm) _____