UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA

GABRIELE MANZOLI ARANDA

Relação entre níveis séricos de RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica em pacientes soropositivos para o HIV em uso de terapia antirretroviral.

Ribeirão Preto – SP

2015

GABRIELE MANZOLI ARANDA

Relação entre níveis séricos de RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica em pacientes soropositivos para o HIV em uso de terapia antirretroviral.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo - para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas

Área de Concentração: Investigação Biomédica

Orientador: Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Jr.

Ribeirão Preto – SP

2015

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Aranda, Gabriele Manzoli

Relação entre níveis séricos de RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica em Pacientes Soropositivos para o HIV em uso de Terapia Antirretroviral. 2015.

73p.:il: 30 cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Clínica Médica. Orientador: Jordão Jr, Alceu Afonso.

1. HIV. 2.RBP-4. 3. Síndrome Metabólica. 4. Terapia Antirretroviral

ARANDA, G.M.

Relação entre níveis séricos de RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica em Pacientes Soropostivos para o HIV em uso de Terapia Antirretroviral

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Investigação Biomédica

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura:_____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura:_____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura:_____

DEDICATÓRIA

À **Deus**, por iluminar sempre o meu caminho; a **Nossa Senhora**, por me cobrir com seu manto de amor e proteção;

Aos **meus pais**, Wagner e Aymar pelo permanente ensinamento de honestidade, em especial à minha **mãe,** pelo grande esforço que sempre fez para educar seus filhos, mostrando ser esta a melhor herança a lhes deixar, um exemplo de luta e perseverança: uma mulher guerreira;

À minha **irmã** Daniele pelo amor e apoio incondicional;

À minha **família** que acreditou no meu potencial e contribuiu para minha formação como ser humano e profissional, em especial aos meus tios Milton e Magda e minha avó Mathilde;

Ao **Guilherme**, porto seguro e companheiro de todas as horas, pelo apoio, dedicação, incentivo e amor.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo **(FMRP - USP)** pela oportunidade de realização do curso de Mestrado;

Ao **Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Jr.** pelos ensinamentos que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional e pela disponibilidade em aceitar ser meu orientador;

Ao **Prof. Dr. Anderson M. Navarro**, pela oportunidade em me aceitar como parte da equipe de Nutrição do ambulatório de Dislipidemia e Doenças Infecciosas e pelos ensinamentos;

Aos **voluntários** pela participação e pela compreensão que fizeram com que este estudo se realizasse;

Paula Payão Ovidio, pela ajuda nas análises, amizade, risadas e ensinamentos que fizeram com que minha jornada se tornasse mais alegre;

Às minhas amigas e companheiras de pós-graduação **Rebeca Mariana, Mariele e Lígia,** e ao amigo **André** pela ajuda e incentivo durante a realização do meu projeto.

À minha amiga **Érika**, por todos os ensinamentos e apoio no decorrer do projeto,

À minha família de coração, **Janét , Hélio , Thaís e Guilherme;**

Aos **funcionários da UETDI**, especialmente ao **Chico**, pela ajuda, atenção e carinho;

Ao funcionário da secretaria da pós-graduação **Émerson**, por toda a ajuda;

À **CNPq** pela concessão da bolsa de estudos.

À todos que de alguma forma contribuíram no desenvolvimento deste trabalho não há palavras que consigam expressar minha imensa gratidão.

EPÍGRAFE

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”. **(Isaac Newton)**

RESUMO

ARANDA, G.M. **Relação entre níveis séricos de RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica em Pacientes Soropositivos para o HIV em uso de Terapia Antirretroviral.** 2015. 73f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

Após a introdução em 1996 de uma nova classe de medicamentos antirretrovirais a potência e a eficácia da TARV aumentaram a expectativa de vida dos pacientes infectados pelo HIV. Entretanto, seu uso está associado a modificações metabólicas e de composição corporal, denominadas síndrome da lipodistrofia do HIV (SLHIV). Alguns estudos tem relatado alterações no metabolismo da glicose e aumento de níveis séricos de colesterol total, LDL-c e triglicérides; ainda, pode-se observar maiores valores de circunferência abdominal e presença de hipertensão arterial sistêmica. Tais achados são também relacionados à síndrome metabólica. Podemos estão relacionar as alterações encontradas em pacientes soropositivos para o HIV com alterações da síndrome metabólica do paciente soronegativo para o HIV. Ainda, encontra-se dados com o aumento de níveis séricos de RBP-4 e correlação positiva com componentes da síndrome metabólica em diversas populações, associados à essas alterações metabólicas, aumento de marcadores de estresse oxidativo. Assim, o presente estudo avaliou se níveis séricos de RBP-4 e marcadores de estresse oxidativo estão aumentados em população HIV+ quando comparados com HIV-. **Casuística e Métodos:** Foram selecionados 59 pacientes divididos em 4 grupos: HIV+SM+, HIV+SM-, HIV-SM- e HIV-SM+. Foram avaliados marcadores de estresse oxidativo (CAT, Frap, MDA, GSH, 8-OHdG), RBP-4, retinol, avaliação antropométrica (peso, estatura, IMC, circunferência abdominal) , composição corporal por impedância biolétrica, exames bioquímicos de perfil lipídico e glicemia de jejum. **Resultados:** Os voluntários dos grupos com síndrome metabólica apresentaram maiores valores de peso, IMC, colesterol total, LDL-c e triglicérides. Níveis aumentados de RBP-4 e MDA também foram encontrados, estando estes mais pronunciados em indivíduos HIV+. Não foi encontrada diferença significativa entre marcadores estresse oxidativo GSH e 8OHdG entre os grupos. Não foi encontrada correlação entre RBP-4 e componentes da SM. **Conclusão:** RBP-4 e marcadores de peroxidação lipídica estão aumentados em pacientes com síndrome metabólica, estando mais pronunciados em indivíduos soropositivos para o HIV.

Palavras Chave: HIV, síndrome metabólica, antirretroviral, estresse oxidativo, RBP-4.

ABSTRACT

ARANDA, G.M. Correlation between serum RBP-4 and Metabolic Syndrome compounds in HIV-1 patients on antiretroviral therapy. 2015. 73 p. Dissertation (master degree). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2015.

Introduction: After the introduction in 1996 of a new class of antiretroviral drugs the potency and efficacy of ART increased the life expectancy of HIV-infected patients. However, its use is associated with metabolic changes and body composition, called lipodystrophy syndrome of HIV (SLHIV). Some studies have reported increased incidence and prevalence of alterations in glucose metabolism and increased serum levels of total cholesterol, LDL-C and triglycerides; yet, we can observe higher waist circumference values and the presence of hypertension. These findings are also related to metabolic syndrome. We can relate the changes are found in patients seropositive for HIV with changes in metabolic syndrome patients soronegative for HIV. In some literatures we can observed increased serum levels of RBP-4 and positive correlation with components of the metabolic syndrome in different populations. Associated with these metabolic abnormalities, increased oxidative stress markers. The present study evaluated whether serum RBP-4 and oxidative stress markers are increased in HIV + population when compared to HIV. **Methods:** We have selected 59 patients divided into 4 groups: HIV + SM +, HIV + SM, SM-HIV and HIV-SM +. We have evaluated oxidative stress markers (CAT, Frap, MDA, GSH) DNA damage markers, RBP-4, vitamin A, vitamin E, anthropometric measurements (weight, height, BMI, waist circumference), body composition by bioelectrical impedance, biochemical tests of lipid profile and fasting glucose. **Results:** Volunteers from groups with metabolic syndrome have higher weight values, BMI, total cholesterol, LDL-C and triglycerides. Increased levels of RBP-4 and MDA were also found, and these are more pronounced in HIV + individuals. There was no significant differences between GSH and oxidative stress marker 8OHdG on different groups. No correlation was found between RBP-4 and some components of MS. Conclusion: RBP-4 and lipid peroxidation markers are elevated in patients with metabolic syndrome, being more pronounced in individuals soropositive for HIV.

Keywords: HIV, metabolic syndrome, antirretrovirals, RBP-4, oxidative stress markers.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Sistema de Classificação de Adultos Infectados pelo HIV..... 03

Quadro 2. Classificação dos Antirretrovirais..... 05

Quadro 3 Esquema de Coleta de Dados..... 17

Quadro 4 Critérios para diagnóstico da Síndrome Metabólica segundo IDF..... 19

Quadro 5. Fórmula para cálculo da Massa Livre de Gordura (MLG) de pacientes soropositivos para HIV..... 20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características Gerais de acordo com grupo de estudo..... 27

Tabela 2. Dados Antropométricos e Pressão Arterial de acordo com grupos de estudo..... 29

Tabela 3. Biomarcadores de Estresse Oxidativo de acordo com grupos de estudo..... 30

Tabela 4. Perfil Lipídico de acordo com grupos de estudo..... 31

Tabela 5. Concentração sérica de RBP-4 de acordo com grupos de estudo..... 31

Tabela 6. Correlação entre RBP-4 e componentes síndrome metabólica HIV+SM-... 32

Tabela 7. Correlação entre RBP-4 e componentes síndrome metabólica HIV+SM+.. 32

Tabela 8. Correlação entre RBP-4 e componentes síndrome metabólica HIV-SM-... 32

Tabela 9. Correlação entre RBP-4 e componentes síndrome metabólica HIV-SM+... 33

Tabela 10. Correlação entre níveis séricos de RBP-4 e retinol..... 33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imunosenescência e HIV/AIDS.....11

Figura 2. Esquema de TARV entre os grupos HIV+.....28

LISTA DE SIGLAS:

AIDS Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

ARV Antirretroviral

CAT Capacidade Antioxidante Total

CT Colesterol Total

Frap Poder Antioxidade de Redução do Ferro

GSH Glutationa

GLUT 4 Transportador de Glicose tipo 4

HDL-c Lipoproteína de Alta Densidade

HIV Vírus da Imunodeficiência Humana

HAART Terapia Antirretroviral de Alta Potência

IF Inibidores de Fusão

IMC Índice de Massa Corporal

IP Inibidores de Protease

ITRN Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeo ou Nucleotídeo

ITRNN Inibidores da Transcriptase Reversa não Análogos de Nucleosídeos ou Nucleotídeos

LDL-c Lipoproteína de Baixa Densidade

MDA Malondialdeído

MLG Massa Livre de Gordura

MG Massa Gorda

TARV Terapia Antirretroviral

TG Triglicérides

TCD4+ Linfócitos T do tipo CD4+

SLHIV Síndrome da Lipodistrofia do HIV

8 OHdG 8 hidroxi-2' –deoxiguanosina

Sumário

1. Introdução..... 01
1.1. HIV/AIDS: Características Gerais..... 01
2. Síndrome da Lipodistrofia do HIV 06
2.1. Alterações Morfológicas..... 06
2.2. Alterações Metabólicas..... 06
2.3. RBP-4..... 08
2.3.1. Características da RBP-4..... 09
2.4. HIV: Envelhecimento Precoce..... 10
2.5. HIV/AIDS: RBP-4 e Estresse Oxidativo..... 12
3. Justificativa..... 14
4. Hipótese..... 15
5. Objetivos..... 16
6. Casuística e Métodos..... 17
6.1. Delineamento do Estudo..... 17
6.2. Sujeitos do Estudo..... 18
6.3.Características Gerais dos Indivíduos..... 18
6.4. Avaliação Antropométrica e Composição Corporal..... 20
6.5. Avaliação Bioquímica..... 21
6.6. Análise Estatística..... 25
7. Resultados 26
8. Discussão 33
9. Conclusão 35
10. Referências Bibliográficas..... 40
Anexos.....

1. INTRODUÇÃO

1.1 HIV/ AIDS: Considerações Gerais

A AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Humana) é uma doença provocada pelo HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana), um retrovírus capaz de infectar e atacar células neurológicas e imunológicas do organismo humano, desequilibrando o sistema natural de defesa (BARRÉ-SINOUSSI et al., 1983; QUAGLIARELLO, 1982). Os primeiros casos foram descritos por volta dos anos 80 em regiões dos Estados Unidos, África Central e Haiti, tendo sua disseminação ocorrida de maneira rápida para as demais regiões do globo. (VALENTE, 2005).

Segundo dados do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS – UNAIDS – estima-se que atualmente exista cerca de 35 milhões de adultos e crianças vivendo com HIV/AIDS, sendo a grande maioria concentrada na África Subsaariana. De acordo com os mesmos dados, o Brasil concentra 2% do total da população em questão (UNAIDS/WHO, 2014).

Com relação à epidemiologia do HIV/AIDS no Brasil, segundo dados do último Boletim Epidemiológico foram notificados de 1980 a junho de 2013 cerca de 686.478 casos de AIDS dos quais 445.197 são do sexo masculino e 241.223 do sexo feminino (BRASIL, 2013).

O HIV 1 e 2 pertencem ao gênero lentivírus da família *retroviridae* e possui um genoma complexo para sua infestação com genes regulatórios e acessórios (SOTO-RIFO et al., 2012; SUDHARSHAN; BISWAS, 2008). Sua transmissão ocorre através da relação sexual sem uso de preservativos com o indivíduo infectado, a reutilização de seringas e agulhas, o recebimento de sangue contaminado ou produtos sanguíneos, ou acidentes ocupacionais envolvendo agulhas contaminadas estão associados com a infecção pelo HIV. A transmissão de mãe para filho, transmissão pre-parto, intraparto, pós-parto ou via aleitamento materno também são vias de transmissão adicional (VERMUND; BROWN, 2012).

O curso da infecção pode ocorrer de maneira lenta e gradual. Inicialmente o indivíduo infectado desenvolve sintomas inespecíficos semelhantes à uma síndrome viral. O próximo estágio da infecção pelo HIV pode perdurar por cerca de até 10 anos, podendo também não apresentar sintomas específicos. Alguns indivíduos apresentam alterações no hemograma e linfadenopatia. Durante esta fase, o HIV destrói lentamente as células do sistema imunitário incluindo as células T CD4+ (YOUNG et al., 2012). Ambos os linfócitos, T CD4+ e CD8+, são importantes para o controle da infecção do HIV (DUGGAL S; CHUGH; DUGGAL AK, 2012).

A evolução da infecção causada pelo HIV pode ser caracterizada pela replicação viral de forma intensa e contínua, resultando em destruição das células do sistema imunológico, incluindo as células T-CD4+. A supressão dos linfócitos T4 ou T *helper* caracteriza um estágio final das reações imunossupressoras, que torna o organismo altamente suscetível ao desenvolvimento de tumores e doenças oportunistas, condições definidoras da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (aids) (YOUNG et al, 2012).

O estadiamento clínico dos pacientes soropositivos para HIV baseia-se no sistema de classificação recomendada pelo CDC - *Centers for Disease Control and Prevetion* (CDC, 2012b). A categorização CDC de HIV/aids é baseado nas concentrações séricas de linfócitos T CD4+ e categorias clínicas (**Quadro1**):

Quadro 1- Sistema de Classificação de adultos infectados pelo HIV

Contagem de células T-CD4+	**Categorias Clínicas**		
	A* Assintomática, HIV aguda ou linfadenopatia	**B**** Condições Sintomáticas (sem A ou C)	**C***** aids – Condições indicadoras
≥500 cels/µL	A1	B1	C1
200-499 cels/µL	A2	B2	C2
<200 cels/µL	A3	B3	C3

Sendo:

- Categoria A: **condições assintomáticas incluem:** diagnóstico de infecção aguda pelo HIV; linfadenopatia > 0,5cm em mais de dois sítios além do inguinal; hepatomegalia; esplenomegalia; dermatite; parotidite.

- **Categoria B, condições sintomáticas, incluem:** angiomatose bacilar; candidíase orofaríngea; candidíase vulvo-vaginal persistentes ou resistentes; doença inflamatória pélvica; displasia cervical (moderada ou severa) / carcinoma cervical; leucoplasia pilosa; herpes zoster; púrpura trombocitopênica idiopática; sintomas constitucionais, como febre (> 38,5ºC), diarréia com duração > 1 mês; neuropatia periférica.

- **Categoria C, condições indicadores da aids, incluem:** pneumonia bacteriana, recorrente (dois ou mais episódios em 12 meses); candidíase dos brônquios, traquéia ou pulmões; candidíase esofágica; carcinoma cervical; coccidioidomicose, disseminada ou extrapulmonar; criptococose extrapulmonar; citomegalovírus (com exceção do fígado, baço); encefalopatia; herpes simplex; histoplasmose; sarcoma de Kaposi; linfoma de Burkitt; micobactérias kansassi; tuberculose; pneumocistose; toxoplasmose cerebral; leucoencefalopatia; salmonela septicemia; síndrome consumptiva.

A evolução da terapia antirretroviral (TARV) sofreu uma transformação importante após a introdução em 1996 de medicamentos da classe dos inibidores de protease (IP), levando à doença a ser considerada de caráter crônico que se manejada de maneira adequada diminui consideravelmente o adoecimento e morte das pessoas vivendo com HIV/AIDS (COHEN et al, 2011; Wilson et al, 2008).

Atualmente, os critérios definidos pelo Ministério da Saúde para início do tratamento para adultos com HIV/AIDS incluem (BRASIL, 2013):

- Todas as Pessoas Vivendo com HIV/AIDS na perspectiva de redução da transmissibilidade do HIV;

- Indivíduos sintomáticos independente da contagem de CD4

- Indivíduos Assintomáticos com contagem de células CD4 ≤ 500 células/mm^3

- Indivíduos Assintomáticos com contagem de células CD4 ≥ 500 células/mm3: Iniciar TARV na coinfecção HIV-HBV. Considerar TARV nas seguintes condições: neoplasias não definidoras de AIDS com indicação de quimioterapia ou radioterapia, doença cardiovascular estabelecida ou risco cardiovascular elevado (acima de 20%, segundo escore de Framingham), coinfecção HIV-HCV, carga viral do HIV acima de 100.00 cópias/mL

- Indivíduos sem contagem de LT-CD4+ disponível
- Gestantes

A TARV consiste na combinação de drogas de diversas classes tais como:

- Inibidores de transcriptase reversa análogo de nucleosídeos ou nucleotídeos (ITRNs): impedem a replicação viral como um análogo de nucleosídeo, interferindo na função da DNA polimerase viral, impedindo que o RNA viral se transforme em DNA complementar;
- Inibidores de transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos (ITRNNs): também inibem a função da enzima transcriptase reversa, impedindo que o RNA viral se transforme em DNA complementar;
- Inibidores de protease (IPs): impedem novas cópias de células infectadas pelo HIV por bloquear a clivagem da protease do polipeptídeo precursor viral, tornando-as partículas imaturas e defeituosas;
- Inibidor de fusão (IF): impedem a ligação e a entrada do vírus nas células que expressam os receptores CD4 em suas membranas;
28
- Inibidor de entrada: atuam fora da célula, impedindo a entrada do HIV bloqueando o receptor de quimiocina CCR5 da membrana celular;
- Inibidor da integrase (II): responsável por inibir a inserção do DNA viral no DNA da célula hospedeira impedindo a capacidade da replicação viral (BRASIL, 2008; MONTESSORI et al., 2004).

Atualmente, existem cerca de 23 antirretrovirais (ARVs) licenciados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para tratamento do HIV/AIDS apresentados no **Quadro 2.**

Quadro 2 - Classe de medicamentos antirretrovirais (ARV).

Inibidores de transcriptase reversa análogo de nucleosídeos e nucleotídeos (ITRNs):	abacavir, didanosina, emtricitabina, lamivudina, estavudina, zidovudina, zalcitabina e tenofovir
Inibidores de transcriptasereversa não análogo de nucleosídeos (ITRNNs)	delavirdina, efavirenz, nevirapina, rilpivirina e etravirina,
Inibidores de protease (IPs)	atazanavir, fosamprenavir, indinavir, ritonavir, nelfinavir, saquinavir, tipranavir, amprenavir e darunavir
Antagonista CCR5	maraviroc
Inibidor da Integrase	raltegravir, dolutegravir
Inibidor de Fusão	enfuvirtida

O principal objetivo da terapia é manter a carga viral reduzida pelo maior tempo possível e possibilitar aumento nas concentrações de células T-CD4+. Observa-se que PVHA, em uso da TARV, que mantém contagens de TCD4+ acima de 500 células/mm^3 e carga viral indetectável atingem expectativa de vida semelhante à da população em geral (BRASIL, 2013; LIBMAN, 2014).

2. Síndrome da Lipodistrofia do HIV:

A infecção pelo HIV tem sido considerada de caráter crônico evolutivo e potencialmente controlável, desde o surgimento da terapia antirretroviral combinada (BRASIL, 2010). Em 1995, o panorama mundial referente ao tratamento medicamentoso dos indivíduos portadores do vírus HIV-1 sofreu uma mudança histórica: a introdução e acesso à Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (HAART), resultando em melhora nos indicadores de morbidade e mortalidade (KOTLER, D.P, 2008).

Paralelamente à utilização da TARV, os benefícios da queda da morbidade e mortalidade foram limitados pelo surgimento e reconhecimento de efeitos colaterais tóxicos dos medicamentos utilizados, tais como alterações metabólicas (resistência insulínica, diabetes mellitus, dislipidemia, osteoporose e osteopenia) além de alterações morfológicas que podem ocorrer ou não concomitantemente às alterações metabólicas (TSIODRAS, S, 2010). A combinação de tais alterações é denominada de Síndrome da Lipodistrofia do HIV (SLHIV) (SHEVITZ, KNOX, 2003; LOONAM, MULLEN, 2012).

O desenvolvimento de tais complicações em pacientes HIV positivos pode resultar em uma maior prevalência de síndrome metabólica e consequentemente, doenças cardiovasculares (BLANCO et al, 2010).

2.1. Alterações Morfológicas

Diferente do que se observava na era pré TARV, grande parte dos indivíduos portadores de HIV apresenta-se em relação ao IMC (Índice de Massa Corporal) na faixa de eutrofia e sobrepeso, mantendo massa muscular, porém com graves alterações no tecido adiposo, sofrendo o mesmo uma redistribuição corporal (CARR et al 2003, GRUFELD, et al 2008). A redistribuição anormal de gordura corporal é descrita como ponto central da Síndrome da Lipodistrofia do HIV (SLHIV), e inclui a lipoatrofia e/ou a lipohipertrofia (CARR et al., 2003).

Na lipoatrofia (LA) pode-se observar perda de gordura subcutânea, principalmente nas regiões da face, nádegas, braços e pernas, tornando as veias e músculos proeminentes

(ENGELSON et al, 2009; OMOLAYO, SEALY, 2008). Alguns fatores de risco foram descritos para o seu desenvolvimento sendo eles: uso dos ITRNs (especificamente estavudina e lamivudina) e uso de IPs por um período maior de 2 anos, diminuição do índice de massa corporal (IMC) antes do inicio e uso da TARV, tempo de diagnóstico da aids, baixa contagem de células T-CD4+, duração e gravidade do HIV, raça branca e sexo masculino (JACOBSON, 2005).

Já na lipohipertrofia (LH) pode-se observar acúmulo de tecido adiposo na região intra-abdominal, região dorso cervical , nas mamas e nas áreas supra púbica, sob a axila anterior do pescoço. No entanto, observa-se que na lipohipertrofia do HIV característica diferente da obesidade visceral tradicional onde a gordura subcutânea pode não estar aumenta e sim diminuída. Os fatores de risco associados com o desenvolvimento de LH no contexto do HIV e TARV incluem maior idade, sexo feminino, IMC maior que 25kg/m^2, uso de IPs e tempo da TARV (JACOBSON, 2005; OMOLAYO, SEALY, 2008).

2.2. Alterações Metabólicas

O uso da TARV correlaciona-se também à alterações no metabolismo dos lipídios e carboidratos. Essas alterações são semelhantes às ocorridas na síndrome metabólica, aumentando assim, o risco de doenças cardiovasculares nos pacientes soropositivos para HIV em uso da terapia antirretroviral (MARCASON, 2009). A prevalência de resistência a insulina, intolerância a glicose e diabetes tipo 2 aumentou significativamente após a introdução da TARV, sendo os IPs a classe dos medicamentos mais relacionados com essas alterações (SHEVITZ, KNOX, 2001). Walmsley et al. (2008)**,** realizaram um estudo prospectivo com 74 pacientes soropositivos para HIV em uso de TARV e encontrou que após 2 anos de seguimento 37% dos avaliados apresentaram alterações no metabolismo da glicose. A dislipidemia também é um efeito colateral frequente entre os portadores de HIV em uso de TARV. Uma vez iniciado o tratamento, estima-se que entre 33 e 82% dos indivíduos desenvolvam hipercolesterolemia e de 43 a 66% hipertrigliceridemia, o que seria superior à prevalência estimada para a população geral (BRASIL, 2008). Os efeitos da TARV na patogênese da dislipidemia são agravados por fatores ambientais, genéticos, nutricionais e comportamentais (CARR, 2003). As alterações no metabolismo das gorduras associadas à

SLHIV são caracterizadas por elevadas concentrações séricas de triglicérides e LDL-C (lipoproteína de baixa densidade) e concentrações reduzidas de HDL-C (lipoproteína de alta densidade) (GKRANIA-KLOTSAS, KLOTSAS, 2007; GRUNFELD et al., 2008). As características patogênicas observadas no desenvolvimento da dislipidemia nesses pacientes incluem lipólise acelerada, inadequada oxidação de gordura, aumento do fluxo hepático de ácidos graxos livres com elevada síntese de LDL-C, prejuízo na metabolização dos triglicerídeos dietéticos, defeito no metabolismo de HDL e hipoadiponectinemia e mais recentemente níveis séricos aumentados de RBP-4. (BALASUBRAMANYAM et al., 2011). Algumas classes de antirretrovirais correlaciona-se com dislipidemia, como: uso de IPs e aumento nos níveis séricos de triglicerídeos, colesterol total e LDL-colesterol; já os ITRNNs podem contribuir para o aumento de colesterol total. (LOONAM, MULLEN, 2012; OMOLAYO, SEALY, 2008).

2.3. RBP-4 (Proteína Transportadora de Retinol)

O tecido adiposo como um órgão biologicamente ativo é capaz de secretar fatores que agem sistemicamente e localmente; esses fatores são chamados adipocinas. Algumas dessas adipocinas foram recentemente descobertas como, por exemplo, a RBP-4 (FU, Y, LUO, N, KLEIN, R.L et al, 2005; TRAYHUM, P, WOOD, I.S, 2004)

Inicialmente tratada como sendo apenas o transportador de retinol no plasma sanguíneo, a RBP-4 mostrou ter uma ligação importante com o desenvolvimento de adiposidade central, resistência à insulina, diabetes tipo 2 e alguns componentes da síndrome metabólica, como alterações no perfil lipídico e hipertensão arterial (JANKE, J et al, 2011; BROCH, M, VENDRELL, J, RICART, W, 2006). A descoberta de sua nova função ocorreu por volta de 2004 quando foi observado que camundongos com receptores GLUT 4 do tecido adiposo silenciados desenvolveram resistência à insulina tanto em fígado como em músculos; camundongos com super expressão desses mesmos receptores mostraram uma maior tolerância ao *clearance* de glicose. Esses achados sugeriram que um fator possivelmente secretado pelos adipócitos pudessem ser os causadores de tais alterações (KAHN, BB, 2001; JANKE, J et al, 2011) .

Futuramente, utilizando técnicas de micro arranjos, foi possível observar que os receptores GLUT 4 estavam aumentados no tecido adiposo de ratos deficientes do mesmo receptor e reduzidos nos animais com super expressão de GLUT4. Mudanças nos níveis séricos de RBP-4 também foram observadas e correlacionadas com as alterações encontradas no tecido adiposo. Baseado em tais achados, foi sugerido que a RBP-4 é um fator secretado pelos adipócitos e pode agir no fígado ou músculos desequilibrando o metabolismo da glicose e afetando a sensibilidade desses tecidos à ação da insulina. Tais vias podem ser dependentes ou independentes de retinol (KAHN, BB, 2001; JANKE, J et al, 2011) .

.2.3.1 Características da RBP-4

A RBP-4 pertence à família das proteínas que transportam moléculas pequenas e hidrofóbicas. Seu gene é localizado no cromossomo 10, próximo à região em que é correlacionada com o aumento dos níveis de glicemia de jejum em europeus (FLOWER, D.R, 1996; MEIGS, J.B, PANHUYSEN, C.I, MYERS, R.H, WILSON, P.W, CUPPLES, L.A, 2002; DUGGIRALA, R, 1999). O fígado possui a maior expressão dessa proteína seguido pelo tecido adiposo (BLANNER, W.S, 1992).

A RBP-4 possui como função primária o transporte de retinol (vitamina A) na circulação, transportando-o do fígado para os tecidos periféricos. Níveis séricos de retinol correlacionam-se positivamente com níveis séricos de RBP-4. Além disso, a RBP-4 também interage com a transtirretina afim de que sua filtração e excreção renal sejam amenizadas. Níveis circulantes de RBP-4 também podem ser influenciados por ferro e ferritina. A RBP-4 pode agir diretamente nos tecidos periféricos através da ligação direta em receptores da superfície celular ou através de receptores de ácido retinóico e acido X retinóico (ERIKSTRUP, C, 2009).

Níveis séricos aumentados de RBP-4 induzem à resistência insulínica através da inibição do substrato do receptor 1 de insulina e ativação da fosforilação da fosfatidilinositol 3-quinase. A resistência insulínica é o gatilho inicial e a principal ligação entre as anormalidades metabólicas e doenças ateroscleróticas observadas na síndrome metabólica (KOTNIK, P, 2011).

A RBP-4 mostrou estar aumentada em indivíduos com intolerância à glicose e diabetes tipo 2 e inversamente correlacionada com sensibilidade à insulina (JANKE, J et al, 2011; GRAHAM, T.E, 2006). Além disso, a RBP-4 mostrou estar independentemente associada com LDL-c e LDL oxidada, sugerindo também um papel no desenvolvimento de desordens ateroscleróticas (MORIMOTO, H. K et al, 2014).

2.4. HIV/AIDS: Envelhecimento Precoce

Atualmente, graças aos avanços obtidos com a TARV como diminuição da morbidade e mortalidade, a infeção pelo HIV adquiriu um caráter de doença crônica e que requer uso contínuo de terapia (ROBERTS, C.K, SINDHU, K.K, 2006). Porém, acompanhados dos avanços, efeitos colaterais medicamentosos tem sido relatados com frequência, como alterações metabólicas, morfológicas e aumento do estresse oxidativo (PERE, D, IGNACIO, S.L, RAMON, T et al, 2008). As alterações metabólicas e morfológicas encontradas em tais pacientes, como doença cardiovascular, diabetes e osteoporose ocorrem em indivíduos HIV negativos como um resultado do processo natural de envelhecimento; porém, na população HIV positiva tais alterações são mais prevalentes e pronunciadas (DEEKS and PHILIPPS, 2009; GUARALDI et al., 2011). Tais achados sugerem a hipótese de que em indivíduos HIV positivos em tratamento com TARV o processo de envelhecimento ocorre de maneira mais acelerada, um fenômeno que é conhecido como processo de envelhecimento acelerado e prematuro.

Alguns fatores podem influenciar na progressão do envelhecimento como tabagismo, etilismo e uso de drogas ilícitas, porém, tais fatores não parecem exercer um efeito direto na aceleração de tal processo na população HIV positiva (SHURTLEFF and LAWRENCE, 2012). Alguns estudos sugerem que somente a presença do vírus HIV é capaz de converter o sistema imunológico de um indivíduo jovem em um organismo similar ao de um indivíduo com idade superior a 40 anos (FERNANDO,M., et al, 2011). Esta teoria de envelhecimento precoce do sistema imunológico é chamada de imunosenescência e é caracterizada por um contínuo e sistêmico processo inflamatório, o que predispõe o paciente HIV positivo à comorbidades e sintomas de envelhecimento encontrados em populações mais idosas (DOCK, EFFROS, 2012; DEEKS et al, 2012) .

A teoria da imunosenescência encontra maior embasamento quando aplicada em pacientes virgens de tratamento devido ao seu principal foco nos efeitos sobre o vírus. Tal teoria parece ser menos plausível em pacientes em tratamento com TARV devido ao fato da mesma ter proporcionado um aumento na contagem de células T CD4+ e redução da carga viral detectável (CAMACHO and TEÓFILO, 2011).

Apesar disso, estudos recentes sugerem que alguns agentes antirretrovirais podem induzir sinais inflamatórios e produzir uma organização imunológica desequilibrada em pacientes em tratamento com TARV (MONDAL et al, 2014; LAGATHU et al, 2007; LEFÈVRE et al, 2010).

Brinkman et al.(1998) sugeriram que a toxicidade mitocondrial causada por alguns agentes da TARV seria responsável pela maioria dos efeitos colaterais observados em pacientes com envelhecimento precoce e acelerado e em uso de TARV.

Tanto HIV/AIDS, por si só e sua terapia podem contribuir para o fenótipo da imunosenescencia, que é encontrada no envelhecimento, na ausência de HIV /AIDS (NAKAGAWA, F; PHILLIPS, A, 2013;) Portanto, a combinação de ambos provavelmente pode exercer efeitos a longo prazo sobre o genoma mitocondrial e muitos dos eventos nocivos observados são reforçados pela ocorrencia do estresse oxidativo e disfunção mitocondrial. A interação desses eventos é complexa e sua regulação pode ocorrer em vários níveis celulares. A figura 1 mostra resumidamente alguns desses efeitos e suas interações.

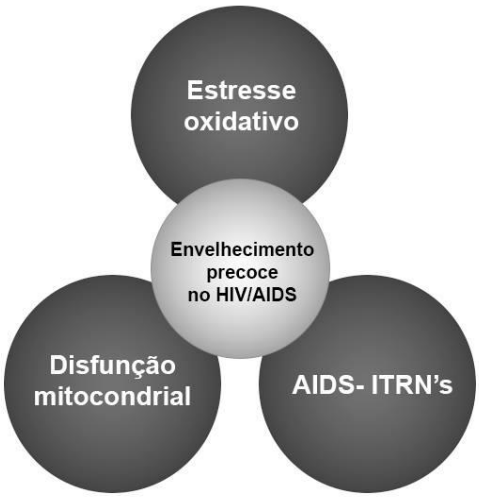

Figura 1. Imunosenescência e HIV/AIDS

2.5. Estresse Oxidativo

Com o advento da terapia antiretroviral, pesquisadores acreditaram que o estresse oxidativo pudesse estar diminuído em pacientes HIV positivos. Porém, os efeitos da TARV em relação ao estresse oxidativo permanecem controversos. Estudos prévios mostraram que a TARV proporciona melhor controle sobre a carga viral e consequentemente aumento da barreira antioxidante do organismo (TANG et al, 2000). Entretando, Tang et al (2005) advertiram que a TARV pode não reduzir o estresse como se esperava.

Conforme evidenciado anteriormente, o estresse oxidativo também exerce função importante em vários mecanismos patogênicos associados com a infecção pelo HIV, incluindo aumento da replicação viral, resposta inflamatória, diminuição da proliferação celular, diminuição da função imune, perda de peso e desenvolvimento de resistência e toxicidade à determinadas drogas utilizadas no tratamento. O dano oxidativo característico do HIV/AIDS é um potencial indutor da ativação viral e posterior dano ao dna das células infectadas (LEWIS, W; COPELAND, W.C., DAY, B., 2001). Clinicamente, a infeção pelo HIV é associada com diminuição de GSH tanto intracelular quanto sistemicamente juntamente com outros marcadores antioxidantes (STAAL, F.J, ELA, S.W., ROEDERES, M, et al, 1992). Em contrapartida, há um aumento de marcadores de estresse oxidativo que contribuirão para a ocorrência dos referidos efeitos colaterais já citados.

Entende-se por estresse oxidativo o conjunto de manifestações causadas pela formação desequilibrada de componentes pró oxidantes (radicais livres) e a capacidade do sistema antioxidante do organismo humano em lidar com essa produção desbalanceada de tais componentes. Algumas proteínas virais como a gp120 e a própria terapia podem contribuir para a exacerbação do estado de estresse oxidativo, levando à desordens sistêmicas como a ocorrência de doenças cardiovasculares.

Além dos níveis desequilibrados de marcadores de estresse oxidativo, pacientes HIV positivos também estão sujeitos à deficiência de micronutrientes envolvidos com as defesas antioxidantes e podem acontecer em todos os estágios da doença (SINGHAL, N., AUSTIN, J, 2002). Como exemplo, vitamina A, beta caroteno e α tocoferol são micronutrientes que desempenham papel importante no sistema imunológico e estresse oxidativo. Deficiências destes micronutrientes são relacionadas com um aumento na progressão do HIV e

comprometimento no funcionamento adequado das células T e B, aumentando a severidade de possíveis infecções. Ainda, o α tocoferol é capaz de evitar a propagação da peroxidação lipídica e reduzir o dano de prováveis radicais livres (FAWZY, W., 2003).

Apesar dos benefícios trazidos com a introdução da TARV, alguns agentes medicamentosos em combinação com o vírus HIV podem causar alterações metabólicas e morfológicas em pacientes infectados pelo HIV. Dentre as alterações metabólicas pode-se incluir resistência à insulina, dislipidemia, osteoporose, entre outros. Algumas dessas alterações fazem parte do conjunto de doenças que compõe a síndrome metabólica, podendo ser designada no paciente soropositivo de síndrome metabólica do HIV (SKAVARILOVA, M, BULAVA, A, STEJSKAL, D, ADAMOVSKA, S, BARTEK, J, 2005). O uso de inibidores de protease têm sido associados a alguns componentes como dislipidemia, redistribuição de gordura corporal e resistência à insulina (MASIA, M, PADILLA, S, BERNAL, E et al, 2006).

Múltiplos mecanismos podem levar ao desenvolvimento da síndrome metabólica incluindo produção anormal de citocinas e adipocitocinas secretadas pelos adipócitos, estado exacerbado de estresse oxidativo e resposta inflamatória desequilibrada. Apesar do número reduzidos de estudos associando níveis séricos de RBP-4 com componentes da síndrome metabólica em pacientes soropositivos para o HIV pode observar que a terapia antirretroviral tem sido associada à níveis aumentados de RBP-4 sérico estando a mesma associada as alterações já citadas. Devido à todos os fatores que possam estar relacionados com a ocorrência e progressão da síndrome metabólica do HIV, faz –se necessário estudos que possam esclarecer e correlacionar tais fatores e suas consequências na morbidade e mortalidade de tais pacientes.

3. JUSTIFICATIVA

Sendo assim, faz-se necessária a investigação de níveis séricos de RBP-4 e marcadores de estresse oxidativo em pacientes soropositivos para o HIV submetidos à terapia antirretroviral a fim de se estabelecer uma correlação entre tais alterações e o desenvolvimento da síndrome metabólica do HIV.

4. HIPÓTESE

Níveis séricos de RBP-4 e marcadores de estresse oxidativo estão aumentados em pacientes soropositivos para o HIV-1 com Síndrome Metabólica quando comparados com controles soronegativos para o HIV-1, correlacionando-se também com componentes diagnósticos da referida síndrome. Marcadores de estresse oxidativo também estão aumentados em pacientes com síndrome metabólica, sem HIV.

5. OBJETIVOS

Avaliar se os níveis séricos de RBP-4 estão correlacionados com componentes diagnósticos da Síndrome Metabólica em pacientes soropositivos para o HIV em uso de terapia antirretroviral, realizar análises de biomarcadores de estresse oxidativo (MDA, CAT, Frap, GSH, 8-OHdG), comparar entre os grupos e realizar análise de retinol.

6. CASUÍSTICA E MÉTODOS

Trata-se de um estudo de corte transversal realizado no Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC/FMRP-USP). Todos os participantes foram previamente convidados e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE B). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição sob o número 191119713.0.00005440 (ANEXO 1)

6.1. Delineamento do Estudo

A coleta de dados ocorreu num período de aproximadamente 15 meses a partir da aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa. Os participantes foram abordados nos ambulatórios da Unidade Especial de Tratamento de Doenças Infeciosas (UETDI) e nas imediações do referido hospital onde foi explicado sobre a pesquisa, riscos e benefícios. Confirmado o interesse, o voluntário assinou o termo de consentimento livre e esclarecido. Foram então realizadas medidas antropométricas e aplicado questionário de avaliação sócio econômico (APÊNDICE A). A seguir foi agendado dia de coleta de sangue e bioimpedância em que o voluntário deveria estar de jejum de 12 horas, evitar exercícios extenuantes e consumo de álcool e cafeína no dia anterior à pesquisa. A coleta de dados aconteceu sempre no período da manhã (7h ao 12h) e tinha duração total máxima de 1 hora e 30 minutos. Após a coleta o pesquisador dirigiu-se ao Laboratório de Nutrição e Metabolismo da Universidade de São Paulo para separação e congelamento do soro em freezer específico a -80°C. Segue abaixo quadro 3 com esquema de coleta:

Quadro 3. Esquema de Coleta de Dados

Dia – local	**Procedimentos**
0 – UETDI	Seleção, convite, aceite, aplicação questionário, aferição de peso, estatura e circunferência abdominal, marcação coleta de sangue.
1 – UPC clínica	Realização exame de bioimpedância e coleta de sangue.
1 – Laboratório de Nutrição e Metabolismo da Universidade de São Paulo	Separação e congelamento do soro em freezer específico.

Os participantes que fizeram parte do Grupo Controle foram selecionados e abordados nas dependências do referido hospital. Seguiu-se a mesma sequência de procedimentos.

6.2. Sujeitos do Estudo:

Foram selecionados 59 indivíduos de ambos os sexos, adultos, com idade mínima de 18 anos e máxima de 60, soropositivos para o HIV em uso de TARV e soronegativos para o HIV. Os voluntários soropositivos para o HIV foram recrutados nos Ambulatórios de Dislipidemia e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida pertencente à UETDI. Já os voluntários soronegativos para o HIV foram recrutados nas dependências do HC-FMRP – USP. Tais indivíduos foram alocados em quatro grupos.

- ✓ Soropositivos para o HIV com Síndrome Metabólica; (HIV+SM+ n=15)
- ✓ Soropositivos para o HIV sem Síndrome Metabólica; (HIV+SM- n=15)
- ✓ Soronegativos para o HIV com Síndrome Metabólica; (HIV-SM+ n=14)
- ✓ Soronegativos para o HIV sem Síndrome Metabólica; (HIV-SM- n=15)

Os critérios de inclusão para o grupo soropositivo para o HIV foram: idade entre 18 e 60 anos, diagnóstico prévio de infecção pelo HIV, uso da TARV há no mínimo 4 meses, contagem de células TCD4+ maior que 200 células/mm3, carga viral indetectável, ausência de hepatites e doenças renais. Já para o grupo controle os critérios de inclusão foram os mesmos

excluindo-se diagnóstico prévio da infecção pelo HIV, uso de TARV e contagem de células TCD4+ maior que 200 células/mm^3.

Os critérios de exclusão para ambos os grupos foram presença de doenças oportunistas.

6.3. Características Gerais dos Indivíduos:

Foi elaborado um questionário específico para os participantes do estudo o qual era aplicado após concordância do indivíduo em participar do estudo. Dados demográficos e hábitos gerais eram coletados para ambos os grupos; uso de medicamentos e diagnóstico da infecção foram obtidos através de registro médico em prontuário (para grupo estudo). Exames como glicemia de jejum e lipidograma também eram obtidos através do sistema informatizado do ambulatório. Caso os exames ultrapassassem um período de realização superior à 3 meses, um novo pedido era feito. Exames de glicemia de jejum e lipidograma de voluntários do grupo controle (HIV -) eram trazidos pelos mesmos ou realizados fora do serviço HC-FMRP-USP, sendo considerados os exames realizados dentro do mesmo período.

Para o diagnóstico de Síndrome Metabólica foram utilizados os critérios propostos pela *International Diabetes Federation* (IDF, 2006), em que:

Quadro 4. Critérios para diagnóstico Síndrome Metabólica segundo IDF, 2006.

Obesidade	Cintura abdominal > 94 cm em homens europeus, > 90 cm em homens asiáticos e > 80 cm em mulheres***
Glicemia Plasmática	≥ 100 mg/dL ou diagnóstico prévio de diabetes
Triglicerídeos	≥ 150 mg/dL ou tratamento para dislipidemia
HDL-colesterol	40 mg/dL em homens ou < 50 mg/dL em mulheres ou tratamento para dislipidemia
Pressão Arterial	Pressão sistólica ≥ 130 mmHg ou diastólica ≥ 85 mmHg ou tratamento para hipertensão arterial

***Componente Obrigatório

6.4. Avaliação Antropométrica e Composição Corporal:

As medidas antropométricas foram realizadas pela pesquisadora em todos os indivíduos de acordo com Duarte et al (2002). O peso corporal, em kg, foi aferido em balança eletrônica Filizola® do tipo plataforma, com capacidade máxima de 300 kg e precisão de 0,1kg, e a estatura, em estadiômetro com precisão de 0,1 cm, estando o indivíduo descalço, com braços estendidos ao longo do corpo e calcanhares juntos, tocando a haste vertical e posicionados no centro do equipamento. O IMC foi calculado a partir formula Peso/Estatura^2, resultando em um valor expresso em kg/m^2(DUARTE, 2002). A aferição do perímetro abdominal foi realizada segundo método proposto por Lohman et al. (1988) com auxilio de uma fita métrica não extensível, com o indivíduo em pé. A pressão arterial foi determinada no membro superior não dominante, após 5 minutos de repouso do paciente na posição sentada através do método oscilométrico utilizando-se aparelho digital automático (OMRON 705IT, validado pela Sociedade Britânica de Hipertensão).

Para a avaliação da composição corporal foi utilizado a impedância bioelétrica (Biodynamics® BIA 310e) que forneceu os valores de resistência (R) e reactancia (Xc). Após esses dados, utilizou-se a equação proposta por Kotler et al. (1996) para estimativa da massa livre de gordura (MLG) em indivíduos soropositivos para o HIV. Por subtração do peso total com a MLG obteve-se a massa gorda (MG) em quilograma (Kg) e posteriormente em porcentagem (%). Os indivíduos soronegativos para o HIV tiveram sua estimativa de massa livre de gordura e massa gorda expressa através dos resultados emitidos pelo aparelho de impedância bioelétrica.

Quadro 5 - Fórmula para cálculo da Massa Livre de Gordura (MLG) de pacientes soropositivos para HIV.

$$\text{MLG} = 0{,}5 \left\{ \frac{Ht^{1{,}48}}{Z^{0{,}55}} \times \frac{1{,}0}{1{,}21} \right\} + 0{,}42\, Wt + 0{,}4$$

sendo: Ht: Altura (cm); Z: capacitância ($Z^2 = R^2 + Xc^2$); Wt: peso (Kg)

KOTLER et al. 1996.

6.5. Avaliação Bioquímica:

A análise de Colesterol Total e Frações (LDL-C, HDL-C), triglicerídeos e glicemia de jejum foram feitas no Laboratório de Bioquímica do HCRP pelo Método Enzimático. A carga viral foi determinada pelo método *Abbott Real Time* no Laboratório de Sorologia do HCRP sendo considerada indetectável quando os valores apresentavam-se abaixo de 50 cópias/mL (BRASIL, 2013). A contagem de T-CD4+ foi obtida pelo método de Citometria de Fluxo no Laboratório Hemocentro do HCRP. Os resultados das análises bioquímicas foram obtidos dos prontuários dos pacientes, sendo considerados os exames realizados dentro do período de 3 meses para colesterol total e frações, triglicerídeos e glicemia e de 6 meses para carga viral e contagem de células TCD4+.

Para as análises bioquímicas de RBP-4, retinol, α tocoferol, marcadores de estresse oxidativo (MDA, GSH, CAT, Frap) e 8-OHdG foram realizadas coleta de 5 mL de sangue

venoso periférico em tubos SST® II Advance® da marca BD vacutainer® após 12 horas de jejum, no período da manhã por punção venosa periférica, com agulha e seringa descartáveis, realizada por um técnico de enfermagem, em uma Unidade de Pesquisa Clínica pertencente à Universidade na qual realizou-se a pesquisa. Após a coleta, as amostras de sangue foram centrifugadas utilizando o aparelho de centrífuga Universal 320R Hettich® por 10 minutos, à 4ºC e a 3500 rotações/minuto (rpm). O soro obtido foi armazenado em duas alíquotas de 1,0 mL em microtubo do tipo eppendorf transparente e arrmazenados em freezer a -80ºC até o momento das análises que foi realizada após coleta de todos os participantes.

6.6. Análises Laboratoriais:

6.6.1. RBP-4 (Proteína Transportadora de Retinol)

A determinação da concentração de RBP-4 foi realizada através do método de ELISA competitivo usando o kit da Cayman® (Cayman Chemical – Michigan – EUA). A preparação das amostras consistiu em descongelamento do soro em temperatura ambiente; foram pipetados 50 µL de soro em *eppendorf* transparente e a seguir completado o protocolo proposto no referido kit. Os valores de abosorbância foram lidos em comprimento de onda de 450nm em aparelho espectrofotômetro Spectro Max M3 da Molecular Devices®. Os valores foram expressos em µg/mL.

6.6.2. GSH (Glutationa)

A determinação do marcador antioxidante GSH foi realizada através do método colorimétrico proposto pelos autores Carolina, M.C., et al (2006) em que 25µL de soro previamente separados em *eppendorfs* transparentes receberam a adição de 1mL do reagente Tris-EDTA; foi realizada então a primeira leitura da absorbância em comprimento de onda de 553nm no aparelho espectrofotômetro da marca Spectro Max M3 da Molecular Devices®. Em seguida foi adicionado 25µL de DTNB às amostras, agitadas vigorosamente em vórtex e

então realizada a segunda leitura no referido aparelho espectrofotômetro. A concentração dos grupos sulfidrila foi calculada utilizando uma curva padrão de Glutationa reduzida. Os valores foram expressos em µM.

6.6.3. FRAP (poder antioxidante de redução do ferro)

Foi realizado conforme método proposto por Benzie and Strain (1996) em que 50µL de amostra foram agitadas em vórtex e adicionadas de 300µl de reagente específico FRAP; depositas em placas de 96 poços e incubadas por 4 minutos a 37°C. Para realização do ensaio branco foi pipetado 10µL de água miliq e 300µ de solução FRAP; já para realização do ensaio padrão foi pipetado em duplicata 10µL de cada ponto de curva e 300µ de solução FRAP; Da absorbância foi feita a leitura em um comprimento de onda de 593nm em aparelho espectrofotômetro da marca Spectra Max M3 da Molecular Devices®. Os valores foram expressos em µM.

6.6.4 CAT (Capacidade Antioxidante Total)

5µl de soro foram separados em eppendorfs transparentes e agitadas em vórtex. Foi adicionado 200µl de reagente específico (acetato 0.4mol/l – ph:5,8) e lido a absorbância em aparelho espectrofotômetro Spectro Max® M3 – Molecular Devices usando comprimento de onda de 660nm. A seguir foi adicionado 20µl do reagente 2 (ABTS) e as amostras foram incubadas por 5 min. Após esse período foi lida a absorbância no mesmo aparelho acima citado em um comprimento de onda de 660nm conforme protocolo proposto por Ozcan Erel, 2003.

6.6.5 Dano Oxidativo ao DNA (8-OHdG)

A concentração plasmática de 8-OhdG foi determinada usando kit específico de ELISA competitivo da marca Cayman® (Cayman Chemical – Michigan – EUA), conforme

protocolo específico. A absorbância foi mensurada em aparelho espectrofotômetro da marca Spectra Max® M3 – Molecular Devices usando um comprimento de onda de 450nm.

6.6.6. Retinol Sérico

A análise se deu pelo método de fluorescência proposto por Futterman et al (1975). 100µl de cada amostra foi separada em eppendorfs transparentes e agitadas em vórtex. Após procedimento foram diluídas (1:100) em NaCl 0,1M. A fluorescência foi medida em um comprimento de onda de 458nm em aparelho Spectro Max® M3 – Molecular Devices e excitação de 335nm. Uma curva padrão foi construída para a determinação da concentração das amostras. Os resultados foram expressos em µM.

Todas as determinações acima foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Metabolismo da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo por técnico devidamente capacitado e respeitando-se as legislações de boas práticas vigentes.

6.7. Análise Estatística:

A análise dos dados foi realizada no programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*), versão 17.0. Para todas as análises foi considerado estatisticamente significativo $p \leq 0,05$.

Foi realizada análise exploratória dos dados para visão global das características das variáveis obtidas descrevendo as por meio de tabelas. Inicialmente, para as variáveis quantitativas, foi verificado a hipótese das mesmas possuírem ou não distribuição normal dentro de cada grupo através do teste de Shapiro - Wilk. Para fins de comparação entre grupos foi utilizado o test t para amostras independes quando as mesmas possuíam distribuição normal e teste de Mann- Whitney quando a distribuição apresentava-se anormal. Todas as variáveis contínuas foram apresentadas em médias, desvios-padrão, máximo, mediana e mínimo e as variáveis categóricas, em porcentagens.

A correlação entre variáveis contínuas com distribuição normal foi admitida pelo teste de Pearson; já as variáveis com distribuição anormal foi admitido pelo teste de Spearman.

7. RESULTADOS

7.1. Caracterização da amostra

O estudo teve a participação final de 59 pessoas sendo 30 voluntários vivendo com HIV/AIDS em uso da terapia antirretroviral divididos em dois grupos de 15 pessoas: com e sem síndrome metabólica (HIV+SM+ e HIV+SM-) e 29 pacientes soronegativos para o HIV divididos em dois grupos: 15 pessoas HIV- sem síndrome metabólica (HIV-SM-) e 14 pessoas HIV- com síndrome metabólica (HIV-SM+) . A média de idade foi maior no grupo HIV+SM+: 49,57±5,89. Todos os participantes dos grupos HIV+ estavam estáveis clinicamente, com contagem de células T-CD4+ maior que 200 células/mm^3 e sem presença de infecções oportunistas. O tempo de diagnóstico de infecção e tempo de uso de TARV foi maior no grupo HIV+SM+ sendo 157,92±83,14 e 128,77±57,33, respectivamente (**Tabela 1**).

Tabela 1. Características gerais de acordo com grupos de estudo.

Variável	HIV+SM- (n=15)	HIV+SM+ (n=15)	HIV-SM- (n=15)	HIV-SM+ (n=14)
Idade (anos)	45,66±9,40[a]	49,57±5,89	31,00±7,10[b]	40,89±11,90[a]
Sexo (%) Masculino	53,3	53,3	42,85	33,33
Feminino	46,6	46,6	51,14	66,66
Uso de Fibratos (%)	6,66	6,66	-	7,14
Uso de Estatinas (%)	6,66	13,32	-	7,14
Uso de Antidiabéticos Orais (%)	-	33,33	-	20
Tabagismo (%)	13,33	40	-	-
Etilismo (%)	26,66	60	73,33	57,14
Duração da Infecção (meses)	122±59,73	157,92±83,14	-	-
CV indetectável (%)	100	100		
CD4+ (céls/mm^3)	591,21±347,05	581,41±217,96	-	-
Tempo TARV (meses)	114,26±58,33	128,77±57,33	-	-

Nota: Os valores são expressos em média ±desvio e porcentagens. CV= carga viral indetectável <40 cópias/mL; TARV= terapia antirretroviral; ITRN: inibidores da transcripatase reversa análogos de nucleosídeo ou nucleotídeo; ITRNN= inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeo ou nucleotídeo; IP= inibidores de protease; Letras diferentes estatisticamente significativo.

Quando ao tipo de TARV 66,66% faziam uso da combinação 2 ITRN+1 ITRNN, 33,33% da combinação 1 ITRNN+ 1IP **(Figura 2)**.

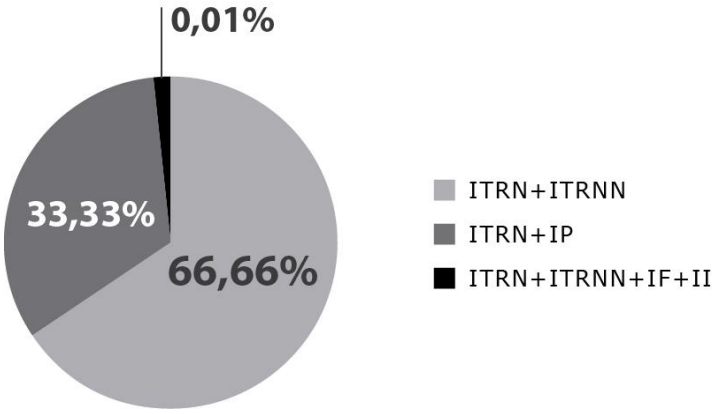

Figura 2. Esquema de TARV dos grupos soropositivos para o HIV.

No grupo HIV+SM- 40% dos pacientes apresentavam hipercolesterolemia, sendo que 53,33% estavam acima dos limites considerados como limítrofes pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (<129mg/dl); 33,33% apresentavam HDL-c abaixo de 40mg/dL.

Já no grupo HIV+SM+ 60% dos voluntários apresentavam níveis de colesterol total elevado, sendo 46,6% com LDL-c acima dos limites estabelecidos como limítrofes e 60% apresentando HDL-c abaixo de 40mg/dl.

No grupo HIV-SM- 20% dos pacientes apresentavam hipercolesterolemia e 20% níveis diminuídos de HDL-c. Já no HIV-SM+ 43% apresentavam hipercolesterolemia e 14,3% níveis diminuídos de HDL-c.

Cinco indivíduos faziam uso de hipolipemiantes no grupo HIV+SM+ . No grupo HIV-SM+ 3 pessoas faziam uso de hipolipemiantes. No grupo HIV+SM+ 1 pessoa fazia uso de antidiabéticos orais e no grupo HIV-SM+ 3 pessoas faziam uso dos mesmos medicamentos (**Tabela 1**).

Quanto à presença de HAS 5 e 1 voluntários apresentavam diagnóstico dos grupos HIV+SM+ e HIV+SM- respectivamente.

Nos grupos soropositivos para o HIV 26,66% relatavam ser tabagistas e 43,33% etilistas em pequena a moderada quantidade.

Os grupos HIV+SM+ e HIV-SM+ possuíam os maiores valores de massa gorda, apresentando diferenças significativas entre si e menores valores de massa livre de gordura, respectivamente. A pressão arterial sistólica foi maior nos grupos com síndrome metabólica e diferiam entre e intra grupos.

Com relação ao IMC e CA, os grupos com síndrome metabólica, soropositivo e soronegativo apresentaram os maiores valores, respectivamente :28,73±6,13 , 31,82±5,72 e 99,84±10,38 , 99,07±9,94 (**Tabela 2**).

Tabela 2. Dados Antropométricos e Pressão Arterial de acordo com grupos de estudo

Variável	HIV+SM- (n=15)	HIV+SM+ (n=15)	HIV-SM- (n=15)	HIV-SM+ (n=14)
Peso (kg)	69,98±14,45 (96-73-38)	76,04±15,98 (114-76,4-60)	70,98±12,04 (96-73-45)	85,54±14,31 (105,5-85-57)
IMC(kg/m2)	24,84±2,21 (29,9-24,3-21,4)	28,73±6,13 (44,5-27,8-22)	25,44±3,49 [a] (32,3-24,4-21,3)	31,82±5,72 [b] (40,8-33,7-25,1)
Circunferência Abdominal (cm)	85,43±7,58[a] (94-88-65)	99,84±10,38[b] (121-98-84)	81,2±6,89 [b] (90-83-65)	99,07±9,94[a] (118-100-87)
Massa Livre de Gordura (%)	75,98±7,25 (88-72-76)	67,54±11,08[a] (87-69-49)	71,06±8,14[a] (86-69-61)	60,16±7,22[b] (70-60-48)
Massa Gorda (%)	24,28±7,10 (37-25-12)	32,38±11,10[a] (51-31-14)	28,03±8,03[a] (40-26-14)	39,88±7,29[b] (50-38-30)
Pressão Arterial Sistólica (mmHg)	113,20±3,2 [a] 3 (120-113-109)	129,78±13,11 [b] (153-133-111)	111,61±2,59 [a] (120-111-110)	128,28±11,59 [a],[b] (150-125-111)
Pressão Arterial Diastólica(mmHg)	76,60±4,45 (87-78-70)	79,57±6,65 (93-78-63)	76,76±8,48 (90-77-60)	76,00±5,46 (85-75-68)

Nota: Os valores são expressos em média ± desvio padrão e máximo, mediana e mínimo. Letras diferentes estatisticamente significativo.

As variáveis marcadoras de estresse oxidativo estão apresentadas na tabela 3. Em relação ao biomarcador de oxidação lipídica MDA, encontrou-se diferença significativa entre os grupos HIV+SM- e HIV-SM- sendo o maior valor encontrado no grupo HIV+SM+:17,16±2,68. Quando realizada a comparação entre os níveis séricos de MDA entre os grupos soronegativos para o HIV, observou-se diferença significativa, sendo o maior valor observado no grupo sem síndrome metabólica 15,91±1,45. Com relação à capacidade antioxidante total, foi encontrada diferença significativa ($p < 0,004$) entre os grupos HIV negativo sendo o maior valor do grupo sem síndrome metabólica: 3,53±0,06. Dentre os grupos soropositivos para o HIV não foi encontrado diferença estatisticamente significativa.

Com relação ao poder antioxidante de redução do ferro, o grupo HIV-SM+ apresentou diferenças comparado aos grupos HIV+SM+ e HIV-SM-, sendo o maior valor observado no grupo HIV-SM+: 298,75±26,24.

Encontrou-se diferença nos níveis séricos de GSH entre os grupos HIV+SM+ e HIV-SM+. Não foram encontradas diferenças significativas quando comparadas as demais variáveis entre os grupos do estudo.

Tabela 3. Biomarcadores de Estresse Oxidativo de acordo com grupos de estudo.

Variável	HIV+SM- (n=15)	HIV+SM+ (n=15)	HIV-SM- (n=15)	HIV-SM+ (n=14)
CAT (μM)	3,47±0,21 (3,6-3,5-2,7)	3,45±0,13 (3,6-3,4-3,1)	3,53±0,06[a] (3,6-3,4-3,5)	2,94±0,33[b] (3,5-2,9-2,4)
Frap (μM)	284,34±53 (413,4-220-53)	291,79±47,73[a] (399-282-232)	298,75±26,24[a] (345-299-254)	246,57±63,54[b] (342-239-131)
MDA (μM)	17,53±2,45[a] (22,8-17,7-13,9)	17,16±2,68[a, b,] (25,2-16,7-12,8)	15,91±1,45[b] (15,9-17,8-12,4)	10,66±6,09[a, b,c] (20,6-7,3-4,38)
GSH (μM)	1,2±0,3 (1,9-1,1-0,8)	1,07±0,26[a] (1,6-0,8-1)	1,09±0,18 (1,4-0,9-1)	1,22±0,44[b] (2,6-0,9-1)
8-OHdG (ng/mL)	2,51±0,36 (3-2,6-1,7)	2,45±0,34 (2,9-2,4-1,5)	2,65±0,25 (3-2,7-2)	2,58±0,45 (3,3-2,6-1,9)

Nota: Os valores foram expressos em média ± desvio padrão e máximo, mediana e mínimo. CAT= capacidade antioxidante total; FRAP= poder antioxidante de redução do ferro; MDA = malondialdeído; 8-OHdG= dano oxidativo ao DNA. Letras diferentes estatisticamente significativo.

Quando analisado perfil lipídico e glicemia de jejum, encontrou-se diferença significativa entre as variáveis colesterol total e lipoproteína de baixa densidade entre os grupos HIV+SM- e HIV-SM-, e entre os grupos HIV-. Com relação aos níveis séricos de triglicérides, os grupos HIV- apresentam diferenças em relação aos demais grupos do estudo, sendo os maiores valores observados no grupo soropositivo para o HIV e com síndrome metabólica: 205,20±82,92.

A glicemia de jejum mostrou-se diferente entre os grupos HIV+SM- e HIV-SM- e entre os grupos soronegativos para o HIV.

Como parte integrante de um provável evento de resistência à insulina, a razão triglicérides/hdl tem sido amplamente utilizada como um dado adicional no diagnóstico. No presente estudo os maiores valores da razão triglicérides/hdl puderam ser

observados no grupo HIV+SM+ ; houve diferença significativa entre os grupos soronegativos com e sem síndrome e entre os grupos HIV+SM- e HIV-SM- **(Tabela 4)**.

Tabela 4. Colesterol Total e Frações, Triglicérides e Glicemia de Jejum de acordo com grupos de estudo.

Variável	HIV+SM- (n=15)	HIV+SM+ (n=15)	HIV-SM- (n=15)	HIV-SM+ (n=14)
Colesterol Total (mg/dL)	209,13±33,76[a] (271-212-156)	211,6±40,24 (269-227-143)	171,48±28,19[b] (214-164-121)	196,72±16,4 [a] (220-195-157)
HDL-c (mg/dL)	42,67±9,6 (44-33-28)	41,87±12,88 (71-39-21)	47,73±11,75 (68-43-33)	48±12,58 (79-43-38)
LDL-c (mg/dL)	136,6±30,94 [a] (188-139-71)	129,33±29,75 (181-171-83)	105,67±27,17 [b] (146-109-50)	117,16±18,83 (140-80-115)
Triglicérides (mg/dL)	176,6±69,53 [a] (241-160-65)	205,20±82,92 [a,b,c] (271-195-65)	90,21±29,14 [b] (145-81-55)	158,69±35,73 [a,b] (218-160-114)
Glicemia de Jejum (mg/dL)	90,33±7,67[a] (100-93-75)	100,07±20,18 (161-93-81)	84,19±8,79 [b] (94-88-61)	96,20±14,37 [a] (131-95-68)
Razão TG:HDL	4,45±2,31[a] (9,1-3,6-1,4)	5,56±3,04 (10,3-5,5-1,4)	2,01±0,88 [b] (4-1,9-1)	3,58±1,21[a] (5,8-3,8-0,9)

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão, máximo, mediana e mínimo. HDL-c= lipoproteína de alta densidade; LDL-c= lipoproteína de baixa densidade; TG:HDL= razão entre triglicérides e lipopotreína de alta densidade. Letras diferentes estatisticamente significativo ($p<0.05$).

A variável de interesse RBP-4 mostrou ser significativamente diferente quando comparada entre os grupos do estudo com maior significância entre os grupos soronegativos para o HIV e HIV+SM- e HIV-SM-, sendo o maior valor observado no grupo HIV+SM+: 31,72±12,18. Não houve diferença entre os grupos nos valores de retinol sérico. (**Tabela 5**).

Tabela 5. Concentração sérica de RBP-4 e retinol de acordo com grupos de estudo.

Variável	HIV+SM-	HIV+SM+	HIV-SM-	HIV-SM+
RBP-4 (µg/mL)	29,04±9,41 [a] (49,3-25,8-16,9)	31,72±12,18 (50,1-33,5-15,5)	19,38±3,78 [b] (26,3-10,2-11,9)	29,78±9,08[a] (41,8-31,9-11,4)
Retinol (µM)	0,96±0,04 (1,04-0,97-0,88)	0,96±0,08 (1,14-0,97-0,87)	0,94±0,03 (1,0-0,95-0,90)	0,98±0,07 (1,18-0,96-0,89)

Nota: Valores expressos em média ± desvio padrão, máximo, mediana e mínimo. RBP-4: proteína transportadora de retinol. Letras diferentes estatisticamente significativo ($p<0.05$).

Com relação às análises de correlação, na contramão da maioria dos estudos analisados na literatura, o presente trabalho não conseguiu estabelecer uma relação entre a variável RBP-4 e a maioria dos componentes da síndrome metabólica. Destaca-se no grupo HIV+SM- a correlação positiva entre RBP-4 e glicemia de jejum (r=0,5 e p<0,001) **(Tabela 6)**.

Tabela 6. Correlação entre RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica segundo grupo HIV+SM-.

	CA	PA sistólica	PA diastólica	HDL-c	Glicemia	Triglicérides
r	0,41	0,30	-0,20	0,30	0,70	0,24
p	0,13	0,49	0,31	0,90	0,001**	0,37

Nota: CA= circunferência abdominal (cm); PA= pressão arterial (mmHg); HDL-c= lipoproteína de alta densidade (mg/dL); Glicemia (mg/dL); **= estatisticamente significativo (p<0,05)

No grupo HIV+SM+ observou-se uma correlação inversa e fraca entre a variável em questão e os níveis de HDL-c (r= -,48 e p 0,07) **(Tabela 7).**

Tabela 7. Correlação entre RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica segundo grupo HIV+SM+.

	CA	PA sistólica	PA diastólica	HDL-c	Glicemia	Triglicérides
r	-0,42	-0,13	0,14	-0,44	0,17	-0,44
p	0,11	0,64	0,60	0,10	0,54	0,60

Nota: CA= circunferência abdominal (cm); PA= pressão arterial (mmHg); HDL-c= lipoproteína de alta densidade (mg/dL); Glicemia (mg/dL).

No grupo HIV-SM- observou-se uma correlação moderada entre a variável em questão e os níveis de glicemia de jejum (r=0,64 e p. 0,01) **(Tabela 8)**.

Tabela 8. Correlação entre RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica segundo grupo HIV-SM-.

	CA	PA sistólica	PA diastólica	HDL-c	Glicemia	Triglicérides
r	0,36	-0,11	0,31	-0,48	0,64	-0,5
p	0,18	0,68	0,25	0,07	0,01**	0,07

Nota: CA= circunferência abdominal (cm); PA= pressão arterial (mmHg); HDL-c= lipoproteína de alta densidade (mg/dL); Glicemia (mg/dL). **= estatisticamente significativo (p<0,05)

Não foram observadas correlações significativas entre a variável em estudo e os demais componentes da síndrome metabólica no grupo HIV- SM+ assim como não pôde ser observada correlação entre os níveis séricos de RBP-4 e retinol. **(Tabela 9 e 10)**, respectivamente.

Tabela 9. Correlação entre RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica segundo grupo HIV-SM+

	CA	PA sistólica	PA diastólica	HDL-c	Glicemia	Triglicérides
r	-0,08	-0,11	-0,05	-0,30	0,11	0,3
p	0,78	0,7	0,80	0,41	0,69	0,22

Nota: CA= circunferência abdominal (cm); PA= pressão arterial (mmHg); HDL-c= lipoproteína de alta densidade (mg/dL); Glicemia (mg/dL).

Tabela 10. Correlação entre RBP-4 e retinol segundo grupo HIV+SM-

	Retinol		
	r	**p**	**n**
HIV+SM-	0,31	0,25	15
HIV+SM+	-0,01	0,96	15
HIV-SM-	0,15	0,57	15
HIV-SM+	0,14	0,61	14

Nota: Coeficiente de correlação de Pearson e Spearman.

8. DISCUSSÃO

O presente estudo apresenta como principais resultados as correlações entre RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica e a caracterização do perfil de estresse oxidativo de pacientes HIV+ quando comparados à controles soronegativos.

A UETDI é uma unidade especializada de referência no tratamento de doenças infecciosas e presta assistência a pacientes soropositivos para HIV de todo o território nacional. A amostra estudada foi composta por 59 indivíduos brasileiros, adultos, de ambos os sexos, clinicamente estáveis, com contagem elevada de células T-CD4 e cargas virais em concentrações indetectáveis, além da comprovação da inexistência de doenças oportunistas. Os grupos estudados eram semelhantes em relação ao tempo de diagnóstico de HIV, esquema antirretroviral usados e o tempo de uso de TARV sendo os mesmos achados observados em alguns estudos (HAN, S.H et al, 2009; MAISÁ, M et al, 2007). Entretanto, não era o objetivo do estudo avaliar a influência desses parâmetros nas concentrações séricas de RBP-4 e biomarcadores de estresse oxidativo.

8 voluntários dos grupos HIV+ relatavam uso de bebida alcoólica; porém com níveis de ingestão de álcool como esporádico e em baixas dosagens. Esse fato pode ser atribuído, pelo menos em parte, devido ao conhecimento sobre a interação entre álcool com os agentes antirretrovirais, interferindo no tratamento a que são submetidos (PENCE et al., 2008).

A média de tempo de descoberta da infecção pelo vírus foi de 10 anos (±5,9) no grupo HIV+SM- e de 13 anos (±7) no grupo HIV+SM+ o que caracteriza uma população com longo período de sorologia positiva. Nos grupos HIV- todos os indivíduos eram estáveis clinicamente e não havia relato médico de presença de doenças.

O tempo de uso de TARV foi de 9,5 anos (±5) no grupo HIV+SM- e de 13 anos (±7) no grupo HIV+SM+, que se aproxima HIV+SM- estudo de Freitas e colaboradores em 2010 (7±3,8 anos) (FREITAS, et al., 2010).

A contagem de células T CD4 média foi de 591,21±347,05 céls/mm3 no grupo HIV+SM- e 581,41±217,96 no grupo HIV+SM+, sendo que um dos critérios de inclusão para os pacientes era contagem de T CD4 acima de 200céls/mm3.

Em estudo de Florindo e colaboradores, os valores encontrados foram de 437,7 ±71,6 céls/mm3 (Florindo et al., 2004). Já Freitas et al (2010) encontraram contagem média de

células TCD4+ próxima da média do presente estudo, sendo de 557.1± 303.2céls/mm3 (FREITAS, P., et al, 2010).

As células T CD4 têm implicações prognósticas na evolução de infecção pelo HIV, pois são um marcador geral de imunocompetência e associam-se à diversos parâmetros clínicos (Ministério da Saúde, 2013). Para garantir uma estabilidade clínica, foi escolhido como critério de inclusão valores superiores a 200céls/mm3, devido ao fato de baixo número de T CD4 (menos de 200 céls/mm3) estar associado à infecções diversas (PINTO, CRUZ, 2002). Baixa carga viral para HIV, por sua vez, é considerada bom marcador preditivo de prognóstico da doença e/ou de sobrevida, por este fato foram selecionados pacientes que apresentavam níveis indetectáveis de carga viral (SAAG, 1997).

Nosso estudo mostrou que indivíduos soropositivos para o HIV possuem Peso, IMC, CA, e pressão arterial sistólica mais elevados que aqueles soronegativos para o HIV, sendo as diferenças mais pronunciadas quando compara-se os grupos HIV+SM- e HIV+SM+, esse ultimo grupo com valores aumentados; os mesmos resultados foram encontrados por Morimoto e colaboradores em 2014 em estudo com 101 voluntários HIV+SM+ e 184 HIV+SM-: indivíduos soropositivos para o HIV com síndrome metabólica possuíam valores mais elevados dos parâmetros citados acima. Com relação à porcentagem de massa gorda e massa livre de gordura os grupos com síndrome metabólica apresentaram maiores e menores valores, respectivamente, fato observado em estudo de Vassimon e colaboradores (2010) que avaliou que indivíduos com lipodistrofia apresentaram maiores valores de massa gorda quando comparados com indivíduos HIV + sem lipodistrofia.

Observando os exames bioquímicos de lipidograma e glicemia de jejum, encontramos que os valores de CT, TG, LDL e glicemia se encontram mais alterados quando comparados aos de um estudo nacional realizado no Rio de Janeiro que avaliou 203 pacientes soropositivos (LEITE, SAMPAIO, 2010), porém não encontramos diferenças significativas entre os grupos HIV+. Comparando a presença de efeitos metabólicos adversos nos pacientes estudados, observa-se que as prevalências de hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e LDL elevado em ambos os grupos HIV+, podendo este atuar como um fator de confusão para a correlação entre níveis séricos do marcador RBP-4. Tais achados eram mais pronunciados no grupo classificado com síndrome metabólica. Domingos e colaboradores (2009) e Marimoto e colaboradores (2014), encontraram valores pouco maiores de HDL-c aos encontrados no presente estudo (34% HIV+SM- e 60% HIV+SM+). Esses dados confirmam a alta prevalência de alterações no metabolismo lipídico em indivíduos em uso de TARV.

Nos grupos soropositivos para o HIV encontrou-se valores aumentados de triglicerídeos e HDL-C abaixo do recomendado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (2013) e os grupos com síndrome metabólica apresentaram valores mais elevados de triglicerídeos e reduzidos de HDL-c, respectivamente. Bonnet et al. (2004), realizaram um estudo prospectivo com 3258 indivíduos HIV+ em uso de TARV, em tratamento para dislipidemia, e observou que o uso de fibratos reduziu 30% os valores de triglicerídeos após 3 meses de uso. Porém, a normalização das concentrações de triglicerídeos ocorreu em apenas 16% dos pacientes que usaram fibratos, sendo que o maior impacto ocorreu quando as concentrações basais estavam acima de 490 mg/dL. O tratamento das dislipidemias em indivíduos soropositivos para o hiv é considerado como difícil, e em certos casos, até intratável (BALASUBRAMANYAM, 2006). Os valores alterados de triglicerídeos no grupo HIV+ do atual estudo comprovam este fato.

A hipertrigliceridemia em pacientes HIV+ pode ocorrer devido ao aumento da produção hepática e redução do clearance da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) (HELLERERSTEIN et al, 1993).

Os valores elevados da razão TRIGLICERÍDEOS: HDL-C podem ser um bom marcador de risco aumentado de doença cardiovascular. Nos grupos HIV+ estudados, ambos apresentam valores acima dos descritos em literatura, sendo mais pronunciados no grupo HIV+SM+. Os baixos níveis de HDL e elevados de triglicerídeos podem ser o mecanismo-chave para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares em pacientes em TARV, visto que a ação pró-aterogênica dos níveis reduzidos de HDL excederia a ação da elevação de LDL destes pacientes (GRUNFELD et al, 2008).

Drogas das classes dos ITRN´s e IP´s utilizadas na terapia antirretroviral têm sido relacionadas como promotoras de lipoatrofia e lipoatrofia, respectivamente. A lipoatrofia do tecido adiposo é histopatologicamente caracterizada por diminuição no tamanho dos adipócitos, aumento da fibrose, presença de adipócitos apoptóticos e sinais de inflamação (GIRALT et al, 2006).

Em adição à sua capacidade de reserva energética, o tecido adiposo é também reconhecido como um órgão endócrino, fonte de hormônios e adipocinas. Os efeitos parácrinos e endócrinos de algumas adipocinas envolvidas no homeostase energética, metabolismo de lipídios e glicose, inflamação e função vascular podem levar às anormalidades metabólicas obervadas em tais pacientes (GIRALT et al, 2011).

Em relação aos marcadores de estresse oxidativo, o principal achado do presente estudo foi os níveis aumentados do marcador de oxidação lipídica MDA em indivíduos soropositivos para o HIV quando comparados com controles negativos. O MDA mostrou ser significativamente diferente entre os grupos HIV+SM+ e HIV-SM+ e entre os grupos HIV+SM- e HIV-SM- sendo os maiores valores encontrados no grupo HIV+SM+, tais achados também foram encontrados nos estudos de MAISÁ, M. (2007). A ocorrência de síndrome metabólica é um fator que pode exercer influência no aumento das concentrações de MDA. Desequilíbrios no tecido adiposo são uma das principais características da síndrome metabólica do HIV. Uma redução no tecido adiposo pode levar a um acúmulo excessivo de triglicerídeos no fígado e músculo esquelético, seguido de resistência insulínica e diabetes (HEILBRONN, L; SMITH, S.R., RAVASSIN, E., 2004). Ainda, o acúmulo de triglicerídeos no musculo esquelético pode causar aumento no transporte de ácidos graxos à matriz mitocondrial adiposa, onde o processo de estresse oxidativo terá início, tornando-as mais propícias à peroxidação lipídica. Adicional ao fato, alguns antirretrovirais podem estar envolvidos no processo de resistência insulínica, redistribuição de gordura corporal, aumento de citocinas pró inflamatórias e espécies reativas de oxigênio. Em adição ao perfil lipídico alterado, aumento nos marcadores de estresse oxidativo lipídico também são associados à risco de doença cardiovascular aumentado (CAPEAU, J., 2007).

O estresse oxidativo contribui em vários aspectos da infecção pelo HIV, incluindo replicação viral, resposta inflamatória e proliferação de células imunológicas diminuídas levando à perda da função imune, apoptose e aumento na sensibilidade aos efeitos tóxicos dos antirretrovirais. Ausência de diferenças significativas nos demais marcadores de estresse oxidativo no grupo HIV podem ser devido ao fato de ambos os grupos possuírem longa exposição à TARV e estabilidade clínica evidenciada pela ausência de infecções oportunistas, contagem de células TCD4+ elevada e carga viral indetectável. No presente estudo, ocorrência de síndrome metabólica em pacientes soronegativos para o HIV não conseguiu explicar os achados nos marcadores de oxidação lipídica.

Valores diminuídos de GSH podem ser observados no grupo HIV+SM+. Valores reduzidos de GSH são associados com diminuição da expectativa de vida sendo a deficiência de GSH associada à um rápido avanço da doença (HERZENBERG et al, 1997).

Ngondi et al (2006) também confirmaram que indivíduos soropositivos para o HIV apresentavam piores marcadores de estresse oxidativo.

Com relação à associação entre a variável de interesse do presente estudo, foi encontrada correlação positiva entre níveis de RBP-4 e glicemia de jejum no grupo HIV+SM- e HIV-SM- ($p<0,001$); níveis séricos de RBP-4 estão aumentados em indivíduos com síndrome metabólica, sendo mais pronunciados nos portadores do vírus HIV, sendo os mesmos achados encontrados nos estudos de Su Jin Jeong, et al (2012) e Qi et al. (2007) que analisaram 98 indivíduos HIV+ com e sem síndrome metabólica. Tal resultado confirma a existência dos demais encontrados na literatura, em que níveis aumentados de RBP-4 em obesos, diabéticos e indivíduos com síndrome metabólica correlacionam-se positivamente com glicemia de jejum alterada, fato que pode ser explicado devido ao fato do gene codificador da RBP-4 estar localizado próximo às genes relacionados à obesidade e Diabetes Mellitus tipo 2 (YANG, Q., GRAHAM, T.E., MODY, N., PREITNER, F., PERONI, O.D., ZBOLOTNY, J., 2005; RAVUSSIN, E., SMITH, S.R., 2002).

Alterações metabólicas e morfológicas são anormalidades comumente encontradas em indivíduos soropositivos para o HIV submetidos à TARV e vários estudos tem sugerido que esses indivíduos estão sujeitos à um risco aumentado de doenças cardiovasculares. Apesar dos mecanismos ainda não serem completamente compreendidos, adipocitocinas como RBP-4 podem contribuir para o desenvolvimento de tais características clínicas (BOZZETTE, S.A, AKE, C.F, TAM, H.K, CHANG, S.W, LOUIS, T.A, 2003; MARY KRAUSE, M, 2003).

Em relação aos demais componentes da síndrome metabólica, o presente estudo não foi capaz de encontrar correlações significativas. Podemos questionar tal discrepância devido à fatores que possam estar aumentados no grupo HIV+SM- como os achados em colesterol total e triglicérides, levantando a hipótese de que tais pacientes sofrem a influência de várias vertentes que possam alterar a correlação entre RBP-4 e tais fatores, mas que não são suficientes para serem classificados como síndrome metabólica positiva. Ainda, vários fatores podem interferir nas correlações e devem ser considerados na interpretação dos resultados, tais como: tipo de ensaio, diferenças genéticas no perfil das populações estudadas e relação entre idade e sexo (ELEONORA B.C. et al, 2014).

Apesar de diversos estudos mostrarem a correlação entre níveis de RBP-4 a progressão da resistência à insulina no tecido adiposo, o seu mecanismo de ação ainda carece de maiores explicações. Níveis elevados de RBP4 têm sido observados em indivíduos com história clínica de aterosclerose, estenose da carótida, cardiomiopatia dilatada e falência cardíaca quando comparados com indivíduos saudáveis (KADOGLOU, 2014; SOLINI, 2009).

Entretanto, outros estudos não conseguiram mostram diferenças significativas (ALKHARFY, M., 2012, MAHMOUDI, M.J., 2012). Tais achados podem aventar a hipótese de que níveis circulantes de RBP4 podem ser um possível marcador de aterosclerose.

Com relação aos níveis de RBP4 e estresse oxidativo, os achados são mais controversos. A maioria dos estudos mostram uma correlação positiva entre RBP4 e marcadores de estresse oxidativo, como por exemplo MDA e uma correlação negativa entre RBP4 e glutationa. Apesar disso, seus mecanismos ainda são incertos e necessitam de maiores estudos (CODOÑER-FRANCH, P., 2013).

Ainda, estudos envolvendo níveis de RBP4 e intervenções no estilo de vida incluindo alimentação hipocalórica e realização de exercícios físicos parece ser menos controversos do que os envolvendo RBP4 e doenças cardiovasculares (NEYESTANI, T.R., 2012). Pode-se observar que níveis de RBP4 não são influenciados pelo consumo de frutas e vegetais, mas são aumentados pelo consumo ou suplementação de vitamina D (D'AMBROSIO, D.N., 2011). Por outro lado, o consumo de alimentos fonte de vitamina A e níveis circulantes de RBP4 ainda são controversos. Apesar da vitamina A ser carreada para tecidos periféricos na forma de retinil esteres e beta caroteno nos quilomícrons, não podemos afirmar se diminuições nos níveis de RBP4 influenciariam o status de vitamina A no organismo humano (D'AMBROSIO, D.N., 2011). Os níveis séricos de retinol do nosso estudo não podem explicar a ausência de correlação devido ao fato dos grupos possuírem níveis de retinol dentro dos limites para normalidade recomendados pela OMS $\geq$0,70 μmol/L e < 1,05μmol/L.

Por fim, tamanho amostral do grupo HIV+ também pode ser um fator importante que contribuiu para nossos achados além da variabilidade encontrada em diversos estudos devido à falta de métodos de mensuração da RBP4 com alta afinidade e especificidade. Adicional ao fato, resultados conflitantes podem ser encontrados de acordo com a espécie de RBP4 analisada, já que o uso de anticoagulantes do plasma podem causar resultados controversos. Diferentes populações, tamanho amostral, regiões geográficas diferentes, status imunológico, IMC e diferenças étnicas também podem causar resultados conflitantes nos níveis de RBP4 observados (MILLS, J.P., 2008; KIERMAN, U.A., 2011).

9. CONCLUSÃO

A partir dos resultados pode-se concluir que:

- A RBP-4 está aumentada em pacientes com síndrome metabólica em especial àqueles portadores do HIV, porém não possui correlação com alguns dos principais componentes da síndrome metabólica. Esta discrepância pôde ser demonstrada em outros estudos e explicada pela interferência de vários fatores como técnica empregada na análise, variações genéticas, de sexo e idade.
- A RBP-4 correlaciona-se positivamente com glicemia de jejum nos grupos HIV+SM- e HIV-SM-
- Há aumento dos marcadores de oxidação lipídica nos pacientes soropositivos para o HIV.
- O perfil lipídico de pacientes HIV+ está alterado independente da ocorrência de síndrome metabólica.
- Tanto o fato de ser paciente HIV+ como a ocorrência de síndrome metabólica são fatores independentes que levam a alterações bioquímicas e metabólicas importantes.

10. REFEREÊNCIAS BILBIOGRÁFICAS

ABEL, E.D, PERONI, O., KIM, J.K, KIM, Y.B., BOSS, O., HADRO, E., MINNEMANNN, T., SHULMAN, G.I, KAHN, B.B. Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver**. Nature** v. 409 p. 729–733, 2001.

BARRÉ-SINOUSSI, F.; CHERMAN, J.C.; REY, F. et al. Isolation of a T lymphotropic retrovirus from a patient at risk for AIDS. **Science**, v.220, p.868-871, 1983.

BRASIL. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV. Ministerio da Saude, Secretaria de Vigilancia em Saude e Programa Nacional de DST e Aids, 2013.

BONNET, E., DELPIERRE, C., SOMMET, A., et al. Total body composition by DXA of 241 HIV-negative men and 162 HIV-infected men. **J Clin Densitom**. v.8, p.287-292, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico AIDS-DST, ano II, nº1; 2013. Disponível em: QUAGLIARELLO, V. The Acquired Immunodeficiency Syndrome: Current Status. **Yale J. Biol Med**, v. 55, n. 5-6, p. 443-452, 1982.

BROCH, M., VENDRELL, J., RICART, W., RICHART, C & FERNANDEZ-REAL, J.M. Circulating retinol-binding protein-4, insulin sensitivity, insulin secretion, and insulin disposition index in obese and nonobese subjects. **Diabetes Care** v. 30 p. 1802–1806, 2007.

BROWN, T.T; MCCOMSEY, G.A; KING, M.S; QAQISH, R.B; BERNSTEIN, B.M.; DA SILVA, B.A. Loss of bone mineral density after antiretroviral therapy initiation, independent of antiretroviral regimen. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 51, p. 554– 61, 2009.

CAMACHO, R., TEOFILO, E., Antiretroviral therapy in treatment naïve patients with HIV infection.**Curr. Opin. HIV AIDS** . v. 6, n.11, 2011.

CARR, A. HIV lipodystrophy: risk factors, pathogenesis, diagnosis and management. **AIDS** n**.**17,Suppl 1, p.S141- S148. 2003

CDC - Centers for Disease Control and Prevetion. HIV Classification: CDC and WHO Staging Systems, 2012b. Disponível em: <http://www.aidsetc.org/aidsetc?page=cg-205_hiv_classification>. Acesso em: 20 jan, 2015.

COMUCCI, E. B. et al. Serum levels of retinol binding protein 4 in women with different levels of adiposity and glucose tolerance. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 58, n. 7, p. 709-714, 2014.

DEEKS, S.G., PHILLIPS, A.N. HIV infection, antiretroviral treatment, ageing, and non-AIDS related morbidity. **BMJ**. v 338, p.3172, 2009.

DOCK, J.N., EFFROS, R.B. Role of CD8 T cell replicative senescence in human aging and in HIV mediated immunosenescence. **Aging and Dis**.v. 2, p.382–397, 2011.

D'ADAMO, E., SANTORO N & CAPRIO, S. Metabolic syndrome in pediatrics: old concepts revised, new concepts discussed. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America.** 38 549–563.

DUGGAL S., CHUGH TD., DUGGAL AK. HIV and Malnutrition: Effects on Immune System. **Clinical and Developmental Immunology**, p.8, 2012.

DUGGIRALA, R., BLANGERO, J., ALMASY, L., DYER, T.D., WILLIAMS, K.L, O´CONNEL, P;. STERN, M.P. Linkage of type 2 diabetes mellitus and of age at onset to a genetic location on chromosome 10q in Mexican Americans. **American Journal of Human Genetics** v. 64 p. 1127–1140, 1994.

ENGELSON, E.S., et al. Fat distribution in HIV-infected patients reporting truncal enlargement quantified by whole-body magnetic resonance imaging. **Am J ClinNutr**.; v.69, n.6, p.1162-9, Jun 1999.

EREL, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable abts radical cation. **Clinical biochemistry,** Cidade, v. 7, n. 37, p. 277-285, 201. 2004.

ERIKSTRUP, C., MORTENSEN, O.H., NIELSEN, A.R., FISHER, C.P, POMGAARD, P., PETERSEN, A.M., KROGH-MADSEN, R., LINDEGAARD, B., ERHARDT, J.G., ULLUM, H., BENN, C.S., PEDERSEN, B.K. RBP-to-retinol ratio, but not total RBP, is elevated in patients with type 2 diabetes. **Diabetes, Obesity & Metabolism** v. 11 p. 204–212, 2009.

Fawzi, W. Micronutrients and human immunodeficiency virus t ype 1 disease progression among adults and children. **Clin. Infect. Dis**, v. 37, p.112–S=116, 2013.
FERRANDO, M., S, RUIZ MATEOS, GANEBAT, M. et al. HIV infection-related premature immunosenescence: high rates of immune exhaustion after short time of infection. **Curr. HIV** , v. 9, p.289–294, 2012.

FLORINDO, A.A., LATORRE, M.R.D.O., SANTOS, E.C.M, BORELLI, A., ROCHA, M.S.Validation of methods for estimating HIV/AIDS patients' body fat. **Rev Saúde Pública. V.**38, n.5, p.643-9, 2004..

FULTERMAN, S., et al. A new, rapid fluorometric determination of retinol in serum. **Investigative ophthalmology,** v. 14, n. 2, p.111-222, jan. 2012.

FREITAS, P., SANTOS, A.C., CARVALHO, D.,, SANTOS, A.C., MARQUES, J., R,

FLOWER, D.R The lipocalin protein family: structure and function. **Biochemical Journal** v. 318 p.1–14, 1996.

FU, Y., LUO, N., Klein, R.L, et al. Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. **J Lipid Res** v 46, p.369–79, 2005.

GRAHAM, T.E., YANG, Q., BLUHER, M., HAMMARSTEDT, A., CIARALDI, T.P, HENRY, R.R., WASON, C.J, OBERBACH, A., JANSSON, P.A., SMITH, U., KAHN, B.B.

Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. **New England Journal of Medicine** 2006

GRUNFELD, C. et al. Contribution of metabolic and anthropometric abnormalities to cardiovasculardesease risk factors. **Circulation,** Hagerstown, v. 118, n.2, p. e20-28, 2008.

HEVITZ, A.H.; KNOX, T.A.; SPIEGELMAN, D.; ROUBENOFF, R.; GORBACH, S.L.; SKOLNIK, P.R. Elevated resting energy expenditures among HIV-seropositive persons receiving highly active antiretroviral therapy. **AIDS.** v.13, p.1351–7, 1999.

HEIJLIGENBERG, R.; ROMIJN, J.A.; WESTERTERP, K.R.; JONKERS, C.F.; PRINS, J.M. SAUERWEIN, H.P. Total energy expenditure in human immunodeficiency virus-infected men and healthy controls. **Metabolism**, v.46, n.11, p.1324-1326, nov. 1997.

HELLERSTEIN, M.K., GRUNFELD, C., WU, K. et al. Increased de novo hepatic lipogenesis in human immunodeficiency virus infection. **J Clin Endocrinol Metab**, v.76, p.559-565,2003.

JACOBSON, D.L., et al. Prevalence of,evolution of, and risk factors for fat atrophy and fat deposition in a cohort of HIV-infected men and women. **Clin Infect Dis.** v.15, n.40, p.1837-45, Jun 2005.

JANKE, J., ENGELI, S., BOSCHMANN, M., ADAMS, F., BOHNKE, J., LUFT, F.C., SHARMA, A.M & JORDAN, J. Retinol-binding protein 4 in human obesity. **Diabetes** v.55, p.2805–2810, 2005.

KOTLER, D.P.; BURASTERO, S.; WANG, J.; PIERSON, R.N. Prediction of body cell mass, fat-free mass, and total body water with bio-electrical impedance analysis: effects of race, sex, and disease. **Am J Clin Nutr.** v.64, Suppl. 3, p.489S-497S, 1996.

LEITE, L.H.M., SAMPAIO, A.B.M.M. Metabolic abnormalities and overweight in HIV/AIDS persons treated with antiretroviral therapy. **Rev Nutr** n. 21, p.277-83, 2008.

LEWIS, R., TORRES, A., WILLIAM. Aging and hiv/aids: pathogenetic role of therapeutic side effects. **Lab invest.,** v. 94, n. 2, p. 120-128, jan. 2012.

LIBMAN, H. Beth Israel Deaconess Medical Center Healthcare Associates HIV Manual, 2014. Disponivel em: <http://aidsetc.org/resource/hiv-manual> . Acesso em: fev 2015.

LOONAM, C.R., MULLEN, A. Nutrition and the HIV associated lipodystrophy syndrome. **Nutr Res Rev**. v.25, n.2, p.267-87, Dez. 2012 .

MARY KRAUSE, M., COTTE, L., SIMON, A., PARTISANI, M., COSTAGLIOLA, D. Epidemiology Group from the French Hospital Database. Increased risk of myocardial infarction with duration of protease inhibitor therapy in HIV-infected men. **AIDS** v. 17 p.2479-86, 2003.

MARCASON, W. What does the term ―HIV-associated lipodystrophy‖ mean? **Journal of the American Dietetic Association,** Chicago, v. 109, n. 2, p. 364, feb. 2009.

MAISA, M., PADILLA, S., BERNAL, E. et al. Influence of antiretroviral therapy on oxidative stress and cardiovascular risk: a prospective cross-sectional study in HIV-infected patients. **Clin Ther** v. 29: p. 1448-55, 2007.

MEIGS, J.B, PANHUYSEN, C.I., MYERS, R.H., WILSON, P.W, CUPPLES, L.A. A genome-wide scan for loci linked to plasma levels of glucose and HbA(1c) in a community-based sample of Caucasian pedigrees: the Framingham Offspring Study. **Diabetes** , 2002.

MINISTERIO DA SAUDE DO BRASIL. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para adultos vivendo com HIV/aids, 2013. Disponivel em: <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2013/52934/_p_vers_atilde_o_preliminar_do_protocolo_cl_iacute_26118.pdf>. Acesso em fev 2015.

MONDAL, D., PRADHAN, L., ALI, M., AGRAWAL, K.C. HAART drugs induce oxidative stress in human endothelial cells and increase endothelial recruitment of mononuclear cells: exacerbation by inflammatory cytokines and amelioration

MONTESSORI V.; PRESS N.; HARRIS M.; AKAGI L.; MONTANER JSG. Adverse effects of antiretroviral therapy for HIV infection. **Canadian Medical Association Journal**, v. 20, n. 2, p.170, 2004.

OLAGNIER, D., PERI,S., STEEL, C. et al. Cellular Oxidative Stress Response Controls the Antiviral and Apoptotic Programs in Dengue Virus-Infected Dendritic Cells. **PLoS Pathogens**, v.10, n.12, 2004.

OMOLAYO, O., SEALY, P.L. HIV lipodystrophy syndrome. **Hosp Physician**. v.44, n.5, p.7-14, maio 2008.

PENCE, B., THIELMAN, N.M., WHETTEN, N.M., OSTERMANN, J., JUMMAR, V. et al. Coping strategies and patterns of alcohol and drug use among HIV-infected patients in the United States Southeast. **AIDS Patient Care** v.2, n.11, p.:869-77. 2008.

PERE, D., IGNACIO, S.L., RAMON, T et al. Dyslipidemia and Cardiovascular Disease Risk Factor Management in HIV-1-Infected Subjects Treated with HAART in the Spanish VACH Cohort. **Open AIDS J** v. 2 p. 26-38, 2009.

SAAG, M.S.. Quantitation of HIV viral load: a tool for clinical practice? In: Sande MA, Volberding PA, editors. **The Medical Management of AIDS**. n5, p.57-74, 2007.

STAAL, FLJ., ELA, S.W., ROEDERER, M. et al. Glutathione deficiency and human immunodeficiency virus infection. **Lancet**. v.339, p.909–912, 2002.

SKVARILOVA, M., BULAVA, A., STEJSKAL, D., ADAMOVSKA, S., BARTEK, J. Increased level of advanced oxidation products (AOPP) as a marker of oxidative stress in patients with acute coronary syndrome. **Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub v.** 149 p. 83-7, 2005.

SHEVITZ, A.H., KNOX, T.A. Nutrition in the Era of Highly Active Antiretroviral Therapy. **Clin Infect Dis**. v.32, n.12, v.1769-1775, 2001.

SOTO-RIFO, R; LIMOUSIN, T; RUBILAR, P.S; RICCI, E.P; DÉCIMO, D; MONCORGÉ,O; TRABAUD, M.A; ANDRÉ, P; CIMARELLI, A; OHLMANN, T. Different effects of the TAR structure on HIV-1 and HIV-2 genomic RNA translation. **Nucleic Acids Res**. v. 40, n. 6, p. 2653-67, 2012.

SMITH, R. L. et al. Premature and accelerated aging: hiv or haart?. **Frontiers in genetics**, v. 3, n. 28, p. 201-210, 201, 2013.

SHURTLEFF,D., LAWRENCE, D., Hiv and substance abuse: a commentary. C**urr. hiv res.** v. 10, n.11, p. 366-378, 2010.SUDHARSHAN, S.; BISWAS, J. Introduction and immunopathogenesis of acquired immune deficiency syndrome. **Indian J Ophtalmol**, v. 56, n.5, p. 357-362, 2008.

Tang, A.M.; Smit, E.; Semba, R.D.; Shah, N.; Lyles, C.M.; Li, D.; Vlahov, D. Improved Antioxidant Status among HIV-In fected Injecting Drug Users on Potent Antiretroviral Therapy**. J. Acquir. Immune Defic. Syndr**, v23, p.321–326, 2004.
TRAYHUM, P., WOOD, I.S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. **Br J Nutr** v.92, p. 347–55,2004.

TSIODRAS, S., et al. Adherence to Mediterranean diet is favorably associated with metabolic parameters in HIV-positive patients with the highly active antiretroviral therapy-induced metabolic syndrome and lipodystrophy. **Metabolism.** v.58, p.854-859, 2009.

TSUTSUMI, C., OKUNO, M., TONNOUS, L., PIANTEDOSI, R., ALLAN, M., GOODMAN, D.S, BLANER, W.S., M, Retinoids and retinoid-binding protein expression in rat adipocytes. **Journal of Biological Chemistry** 1992

UNAIDS/WHO – Joint United Nations Programe on HIV/AIDS (UNAIDS)/ World Health Organization (WHO). Press Release; 2014. Disponível em: < http://www.unaids.org/en/resources/presscentre/pressreleaseandstatementarchive/2014/july/20140716prgapreport/ >. Acesso em: jan. 2015

VALENTE, A. M. M. et al. Alterações metabólicas da Síndrome Lipodistrófica do HIV. **Arq.Bras. Endocrinol Metab**. v.49, n.6, dez 2005.

<http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2013/55559/_p_boletim_2013_internet_pdf_p__51315.pdf>. Acesso em: jan 2015.

VERMUND, S.H., BROWN, A.J .L. The HIV Epidemic: High-Income Countries. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 2, n. 5, 2012. doi: 10.1101/cshperspect.a007195

YOUNG, J., et al. CD4 cell count and the risk of AIDS or death in HIV-Infected adults on combination antiretroviral therapy with a suppressed viral load: a longitudinal cohort study from COHERE. **PLoS Med**. v.9, n.3, 2012.

UNAIDS/WHO – Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS)/World Health Organization (WHO). Aids epidemic update; 2011. Disponível em: <http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/unaidspublication/2011/JC2216_WorldAIDSday_report_2011_en.pdf> Acesso em junho 2015.

APÊNDICES

APÊNDICE A – PROTOCOLO DE PESQUISA

DADOS PESSOAIS: **DATA: ___/___/___**

Nome: _____Idade: _____

Estado Civil: _____Profissão: _____Escolaridade: _____

Número de pessoas na família: _____ Renda mensal familiar: _____

HIPÓTESE DIAGNÓSTICA: _____

_____

data do ínicio de sorologia positiva: _____

Data do ínicio do tratamento de HIV: _____

Tratamento anti-retroviral: _____

_____

_____

Outros medicamentos: _____

_____

Uso de fibratos e estatinas? ☐ Sim ☐ Não

ANTECEDENTES FAMILIARES (especificar os familiares):

Diabetes: ☐ Sim ☐ Não Doenças Coronarianas: ☐ Sim ☐ Não

Hipercolesterolemia/Trigliceridemia: ☐ Sim ☐ Não

Outras (quais):_____

ANTECEDENTES PESSOAIS:

Tabagismo: ☐ Não ☐ Sim ☐ Ex Qtde. _____

Consumo de bebidas alcoólicas: ☐ Não ☐ Sim ☐ Ex Freq._____

Drogas Ilícitas: ☐ Não ☐ Sim ☐ Ex usuário

Presença de insuficiência renal e/ou hepática: ☐ Sim ☐ Não

Hipertensão : ☐ Sim ☐ Não Diabetes: ☐ Sim ☐ Não

Dislipidemia: ☐ Sim ☐ Não

Osteopenia e Osteoporose: ☐ Sim ☐ Não

HÁBITOS GERAIS:

Atividade Física: Tipo: _____ Frequência: _____

EXAMES LABORATORIAIS:

Exames	Resultados	Valor de referência	Data do exame
Carga viral			
CD4+			
Colesterol total			
HDL			
LDL			
Triglicérides			
Glicemia			
TGO			
TGP			
Cr			
Ur			

ANTROPOMETRIA:

Medidas	Valores
Peso (Kg)	
Altura (cm)	
IMC (kg/m²)	
Circunferência do Abdomêm (cm)	
% Massa Magra	
Gordura Corporal Total (kg)	
Água Corporal Total	
% Massa Gordura	
Massa Magra (kg)	

Resitência	
Reactância	
Pressão Arterial	

Coletou sangue? ☐ Sim ☐ Não

APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Grupo Controle

FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FMRP-USP
RIBEIRÃO PRETO

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

"Relação entre níveis séricos de RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica em pacientes HIV positivo em uso de terapia antirretroviral"

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado Senhor (a),

Você está sendo convidado (a) para participar de uma pesquisa intitulada "Relação entre níveis séricos de RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica em pacientes HIV positivo em uso de terapia antirretroviral", que estudará as relações entre algumas proteínas do estado nutricional e medidas de gordura e açúcar no sangue, pressão arterial e medida de cintura, abdômen e quadril. O objetivo é melhorar o tratamento dietético e acompanhamento nutricional e prevenir doenças do coração e diabetes em pacientes HIV positivos.

Informo que a sua participação é voluntária e não obrigatória e você fará parte do grupo controle do nosso estudo, constituído somente por pessoas que não são portadoras do HIV-1. Para isto, será necessário realizar medidas de peso e circunferências (braço, abdômen, panturrilha e quadril), medida de pressão arterial e coleta de sangue (RBP-4 e vitamina A). Para a coleta de sangue iremos coletar três amostras de sangue.

Este exame será realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; afirmo que o desconforto que o senhor poderá sentir será a dor pela picada da agulha e podem ocorrer hematomas devido ao processo da coleta de sangue no momento do exame. Além disso, será necessário obter informações de seus dados pessoais (questionados pelo pesquisador responsável) como socioeconômicos além de exames bioquímicos (Colesterol total e frações, triglicérides, uréia, creatinina, TGO, TGP, sódio, potássio e glicemia de jejum) através de seu prontuário médico, caso o senhor seja paciente do Hospital das Clínicas. Se o senhor não for paciente HC, será preciso que o senhor traga os exames solicitados pela pesquisadora. Estas informações serão mantidas em segredo pela equipe responsável da pesquisa e não serão mencionados seus dados pessoais (nome completo, endereço, telefone, registro HC, data de nascimento, renda mensal, número de filhos e número de pessoas na família) nas divulgações em publicações científicas; você será identificado apenas com um número.

Como benefício, a sua participação será essencial para elucidarmos os mecanismos envolvidos na origem das alterações nas quantidades de gordura e açúcar no sangue de pacientes HIV positivos. Você pode deixar de participar da pesquisa quando quiser, sem nenhum problema ou prejuízo.

A sua vinda ao Hospital das Clínicas será agendada de acordo com a sua disponibilidade, de preferência fora do seu horário de trabalho ou durante período de almoço. O tempo que o senhor gastará para participar das coletas será de aproximadamente duas horas. Durante este período da pesquisa será fornecida pela pesquisadora uma alimentação para o senhor.

Reforço que este protocolo de pesquisa não irá interferir nos seus procedimentos clínicos, cirúrgicos e terapêuticos caso o Sr (a). esteja em acompanhamento aqui no Hospital das Clínicas em Ribeirão Preto ou em outro serviço de atendimento.

Você terá direito a uma via do termo de consentimento devidamente assinado, podendo entrar em contato com o pesquisador responsável caso haja alguma dúvida relacionada à sua participação na pesquisa a qualquer momento.

Eu, _____, número do registro _____, fui convidado(a) e aceito livremente a participar do estudo intitulado "Relação entre níveis séricos de RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica em pacientes HIV positivo em uso de terapia antirretroviral" sob a responsabilidade dos pesquisadores Gabriele Manzoli Aranda, nutricionista, mestranda do programa de Clínica Médica do HCFMRP- USP e prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Júnior, docente do departamento de Clínica Médica da FMRP – USP.

Ribeirão Preto, de de

Pesquisadores Responsáveis:

Gabriele M. Aranda
Pesquisador Responsável
Tel: (16) 98182-9218
Data: ____/____/____

Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Jr.
Docente Responsável
Tel: (16) 3602-4564
Data: ____/____/____

Participante:

_____
Nome:
Data: ____/____/____

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa
Telefone: (16) 3602-2228
Ribeirão Preto – São Paulo

APÊNDICE C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Grupo Estudo

FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FMRP-USP
RIBEIRÃO PRETO

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

"Relação entre níveis séricos de RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica em pacientes HIV positivo em uso de terapia antirretroviral"

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado Senhor (a),

Você está sendo convidado (a) para participar de uma pesquisa intitulada "Relação entre níveis séricos de RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica em pacientes HIV positivo em uso de terapia antirretroviral", que estudará as relações entre algumas proteínas do estado nutricional e medidas de gordura e açúcar no sangue, pressão arterial e medida de cintura, abdômen e quadril. O objetivo é melhorar o tratamento dietético e acompanhamento nutricional e prevenir doenças do coração e diabetes em pacientes HIV positivos.

Informo que a sua participação é voluntária e não obrigatória e você fará parte do grupo constituído somente por pessoas que são portadoras do HIV-1. Para isto, será necessário realizar medidas de peso e circunferências (braço, abdômen, panturrilha e quadril), medida de pressão arterial e coleta de sangue (RBP-4 e vitamina A). Para a coleta de sangue iremos coletar três amostras de sangue.

Este exame será realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; afirmo que o desconforto que o senhor poderá sentir será a dor pela picada da agulha e podem ocorrer hematomas devido ao processo da coleta de sangue no momento do exame. Além disso, será necessário obter informações de seus dados pessoais (questionados pelo pesquisador responsável) como socioeconômicos além de exames bioquímicos (Colesterol total e frações, triglicérides, uréia, creatinina, TGO, TGP, sódio, potássio e glicemia de jejum) através de seu prontuário médico, caso o senhor seja paciente do Hospital das Clínicas. Se o senhor não for paciente HC, será preciso que o senhor traga os exames solicitados pela pesquisadora. Estas informações serão mantidas em segredo pela equipe responsável da pesquisa e não serão mencionados seus dados pessoais (nome completo, endereço, telefone, registro HC, data de nascimento, renda mensal, número de filhos e número de pessoas na família) nas divulgações em publicações científicas; você será identificado apenas com um número.

Como benefício, a sua participação será essencial para elucidarmos os mecanismos envolvidos na origem das alterações nas quantidades de gordura e açúcar no sangue de pacientes HIV positivos. Você pode deixar de participar da pesquisa quando quiser, sem nenhum problema ou prejuízo.

A sua vinda ao Hospital das Clínicas será agendada com os retornos já previstos do seu atendimento médico, assim não aumentará seus gastos com transporte. O tempo que o senhor gastará para participar das coletas será de aproximadamente duas horas, podendo ser antes ou após o seu atendimento médico. Durante este período da pesquisa será fornecida pela pesquisadora uma alimentação para o senhor.

Reforço que este protocolo de pesquisa não irá interferir nos seus procedimentos clínicos, cirúrgicos e terapêuticos enquanto estiver em acompanhamento aqui no Hospital das Clínicas em Ribeirão Preto.

Você terá direito a uma via do termo de consentimento devidamente assinado, podendo entrar em contato com o pesquisador responsável caso haja alguma dúvida relacionada à sua participação na pesquisa a qualquer momento.

Eu, _____, número do registro _____, fui convidado(a) e aceito livremente a participar do estudo intitulado "Relação entre níveis séricos de RBP-4 e componentes da Síndrome Metabólica em pacientes HIV positivo em uso de terapia antirretroviral" sob a responsabilidade dos pesquisadores Gabriele Manzoli Aranda, nutricionista, mestranda do programa de Clínica Médica do HCFMRP- USP e prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Júnior, docente do departamento de Clínica Médica da FMRP – USP.

Ribeirão Preto, de de .

Pesquisadores Responsáveis

Gabriele M. Aranda	Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Jr.
Pesquisador Responsável	Docente Responsável
Tel: (16) 98182-9218	Tel: (16) 3602-4564
Data: ____/____/____	Data: ____/____/____

Participante:

_____

Assinatura

Nome:

Data:____/____/____

ANEXOS

ANEXO 1- Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA USP -

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Relação entre níveis séricos de RBP-4 e Síndrome Metabólica em pacientes soropositivos para o HIV em uso de Terapia Antirretroviral.

Pesquisador: Gabriele Manzoli Aranda

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 19119713.0.0000.5440

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 495.016

Data da Relatoria: 09/12/2013

Apresentação do Projeto:

Será um estudo do tipo transversal que recrutará e analisará 60 indivíduos subdivididos em 4 grupos: 1)HIV positivo apresentando síndrome metabólica (HIV+SM+); 2)HIV positivo sem síndrome metabólica (HIV+SM-); 3)Grupo Controle apresentado síndrome metabólica (HIV-SM+)e 4)Grupo Controle sem síndrome metabólica (HIV-SM-). Quanto à correlação entre níveis séricos de RBP-4 e componentes da SM. O uso da TARV (Terapia Antirretroviral) conduz à um amplo espectro de complicações metabólicas, incluindo lipodistrofia, resistência insulínica e dislipidemia, que podem contribuir para o aumento da prevalência da síndrome metabólica (SM) e doenças cardiovasculares em pacientes HIV positivos. A proteína ligadora de retinol-4 (RBP-4) recentemente descoberta como sendo uma adipocina, têm sido associada positivamente com componentes da SM também em populações HIV positivas. Portanto, o diagnóstico precoce de SM e correlação com RBP-4 em tais pacientes pode ser de fundamental importância para a prevenção da ocorrência de doenças cardiovasculares e posterior diminuição nos índices de mortalidade. Todos os dados serão analisados no programa SPSS.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo desse estudo é avaliar a correlação entre níveis séricos de RBP-4 e componentes da SM em pacientes HIV positivos em uso de TARV.Correlacionar níveis de RBP-4 com:-parâmetros

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

metabólicos (triglicerídeos, colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL) e baixa densidade (LDL), glicose de jejum); - índice de Massa Corporal e circunferência abdominal; - pressão arterial.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Possíveis hematomas provocados pela coleta sanguínea. Dor devido à punção venosa. Quebra de sigilo no momento da pesquisa de dados complementares (exames bioquímicos. Os dados pessoais não serão utilizados em publicações científicas e os mesmos serão de conhecimento somente da pesquisadora responsável. Não serão mencionados alguns dados pessoais como (endereço, telefone, nome completo, registro HC, data de nascimento, renda mensal, número de filhos e número de pessoas na família) em publicações científicas.

Benefícios: Contribuição para elucidação de dúvidas relacionadas à gênese das alterações metabólicas ocorridas em tais pacientes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto de Mestrado em Medicina a ser desenvolvido pela pós-graduanda Gabriele Manzoli Aranda sob a orientação do Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Júnior. Metodologia Serão coletadas informações socioeconômicas, variáveis antropométricas (peso, estatura, circunferências de cintura e quadril) e soro para determinações laboratoriais de Glicemia, Perfil Lipídico, Hemoglobina Glicada, contagem de linfócitos TCD4+, carga viral, e RBP-4 e será aferida a pressão arterial. Os indivíduos HIV+SM+ serão selecionados no Ambulatório de Dislipidemia do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP (HC FMRP-USP) e os indivíduos HIV+SM- serão selecionados no Ambulatório de Síndrome da Imunodeficiência, ambos pertencentes à Unidade Especial de Tratamento em Doenças Infecciosas (UETDI). Já os indivíduos dos grupos controle entre os funcionários do HC-FMRP/USP. Os grupos sem sorologia positiva para HIV serão considerados controles, classificados como tendo ou não SM. As análises serão realizadas no Laboratório de Nutrição e Metabolismo da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os documentos e termos foram apresentados de forma apropriada.

Recomendações:

Não há recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O CEP considera o Projeto de Pesquisa - versão 5 de 09/12/13, o TCLE-Grupo Controle - versão 5 de 09/12/13 e o TCLE-Grupo Estudo - versão 5 de 09/12/13 aprovados.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA USP -

Continuação do Parecer: 495.016

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

RIBEIRAO PRETO, 16 de Dezembro de 2013

Assinador por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
(Coordenador)

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br