UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

LUCIANA CASTELAR

Polimorfismo da interleucina-18 e do interferon gama na síndrome da lipodistrofia associada à terapia anti-retroviral em portadores do HIV-1

RIBEIRÃO PRETO

2008

LUCIANA CASTELAR

Polimorfismo da interleucina-18 e do interferon gama na síndrome da lipodistrofia associada à terapia anti-retroviral em portadores do HIV-1

Dissertação apresentada a Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Enfermagem junto ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem Fundamental.

Área de concentração: Enfermagem Fundamental

Linha de pesquisa: Ciência e tecnologia em Enfermagem

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Morais Fernandes

RIBEIRÃO PRETO
2008

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.

FICHA CATALOGRÁFICA

Castelar, Luciana

Polimorfismo da interleucina-18 e do interferon gama na síndrome da lipodistrofia associada à terapia anti-retroviral em portadores do HIV-1.
Ribeirão Preto, 2008.
106 f. : il.

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Enfermagem Fundamental
Orientadora: Fernandes, Ana Paula Morais

1. HIV-1. 2. HAART. 3. Síndrome da Lipodistrofia Associada ao HIV. 4. Polimorfismo genético. 5. IL-18. 6. Interferon gama.

FOLHA DE APROVAÇÃO

LUCIANA CASTELAR

Polimorfismo da interleucina-18 e do interferon gama na síndrome da lipodistrofia associada à terapia anti-retroviral em portadores do HIV-1.

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre.
Área de Concentração: Enfermagem Fundamental

Aprovada em: _____

Banca Examinadora

Prof.Dr._____

Instituição:_____Assinatura:_____

Prof.Dr._____

Instituição:_____Assinatura:_____

Prof.Dr._____

Instituição:_____Assinatura:_____

Dedico este trabalho

À minha família

Antonio Carlos, Norma, Gerson e Bandit

E ao meu namorado

Ricardo

Por serem tudo o que tenho de mais precioso.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Ana Paula Morais Fernandes, por sua confiança, apoio, dedicação e pelas oportunidades concedidas para meu aprimoramento pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Eduardo Antônio Donadi, por possibilitar a realização desse trabalho em seu laboratório e por todos os ensinamentos.

À minha amiga, Me. Mariana Machado da Silva, por sua participação essencial neste trabalho, e especialmente, por toda a ajuda desde os tempos de graduação.

Ao Dr. Erick C. Castelli, pelos auxílios e ensinamentos em todas as fases de confecção deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Celso Teixeira Mendes Júnior, pela realização de parte das análises estatísticas e pela prontidão em ajudar sempre que solicitado.

À Profa. Dra. Alcyone Artioli Machado, por tornar possível a realização das atividades na Unidade Especial de Tratamento de Doenças Infecciosas (UETDI) e por todo o apoio concedido.

Aos meus amigos do laboratório: Dra. Neifi, Dra. Renata, Dra. Yara, Me. João, Me. Gustavo, Rubens e Sandra, por todos os ensinamentos das práticas laboratoriais e pelos momentos de agradável descontração.

Aos funcionários da UETDI: Sr. Francisco e D. Cida, pelo respeito e gratuidade nos auxílios dedicados a mim.

Aos meus familiares e amigos que sempre me acompanharam.

A todos os pacientes.

À FAPESP, pela concessão da bolsa de mestrado.

Os dois horizontes

Dous horizonte fecham nossa vida:

Um horizonte, — a saudade
Do que não há de voltar;
Outro horizonte, — a esperança
Dos tempos que hão de chegar;
No presente, — sempre escuro, —
Vive a alma ambiciosa
Na ilusão voluptuosa
Do passado e do futuro.

Os doces brincos da infância
Sob as asas maternais,
O vôo das andorinhas,
A onda viva e os rosais.
O gozo do amor, sonhado
Num olhar profundo e ardente,
Tal é na hora presente
O horizonte do passado.

Ou ambição de grandeza
Que no espírito calou,
Desejo de amor sincero
Que o coração não gozou;
Ou um viver calmo e puro
À alma convalescente,
Tal é na hora presente
O horizonte do futuro.

No breve correr dos dias
Sob o azul do céu, — tais são
Limites no mar da vida:
Saudade ou aspiração;
Ao nosso espírito ardente,
Na avidez do bem sonhado,
Nunca o presente é passado,
Nunca o futuro é presente.

Que cismas, homem? — Perdido
No mar das recordações,
Escuto um eco sentido
Das passadas ilusões.
Que buscas, homem? — Procuro,
Através da imensidade,
Ler a doce realidade
Das ilusões do futuro.

Dous horizontes fecham nossa vida.

Machado de Assis

RESUMO

CASTELAR, L. **Polimorfismo da interleucina-18 e do interferon gama na síndrome da lipodistrofia associada à terapia anti-retroviral em portadores do HIV-1**. 2008. 106 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

A introdução da terapia anti-retroviral de alta potência no tratamento da infecção pelo HIV reduziu significativamente as taxas de morbi-mortalidades relacionadas à imunodeficiência. Entretanto, o tratamento medicamentoso é acompanhado de vários efeitos colaterais, dentre eles, a síndrome da lipodistrofia (SL), caracterizada por alterações morfológicas e metabólicas. Apesar de sua patogenia não estar totalmente esclarecida, é sabido que aumento dos níveis de algumas citocinas inflamatórias estão relacionados com o desenvolvimento da SL. Diversos sítios polimórficos têm sido descritos por influenciarem a transcrição de genes, levando a variações nos níveis de produção de citocinas, como os da região promotora da interleucina-18 (IL-18 -607 C/A e IL-18 -137 C/G) e do gene do interferon gama (IFN-γ +874 T/A). Diante disso, esse estudo tipificou os polimorfismos da IL-18 e do IFN-γ em 88 pacientes portadores do HIV com a SL, em 79 portadores do HIV sem a SL, todos sob terapia anti-retroviral e em 133 indivíduos saudáveis, por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase com iniciadores de seqüência específica. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa. A presença do alelo -607A e do genótipo -607AA na IL-18 estava significativamente aumentada nos pacientes portadores do HIV com SL quando comparados aos sem a SL, conferindo susceptibilidade ao desenvolvimento da síndrome. De maneira oposta, o alelo -607C e o genótipo -607CC estavam significativamente aumentados em pacientes portadores do HIV sem SL quando comparados aos com a SL, conferindo proteção ao desenvolvimento da síndrome. Os haplótipos -137G/-607A and -137C/-607A, que comportam o alelo -607A, também estavam associados com a susceptibilidade à SL e o haplótipo -137G/-607C estava fortemente associado com proteção contra a SL. Nenhuma diferença significativa na distribuição alélica e genotípica da IL-18 -137 e do IFN-γ +874 foram observadas entre os grupos de pacientes e o grupo controle. Este é o primeiro estudo que avaliou o polimorfismo da IL-18 e do IFN-γ na SL e os resultados sugerem que a região promotora da IL-18 está associada com o desenvolvimento da SL em pacientes portadores do HIV.

Palavras-chave: HIV-1. HAART. Síndrome de Lipodistrofia Associada ao HIV. Polimorfismo genético. IL-18. Interferon gama.

ABSTRACT

CASTELAR, L. **Polymorphism of the interleukin-18 and interferon-gamma in antiretroviral-associated lipodystrophy syndrome in HIV-1-infected patients**. 2008. 106 p. Master's Thesis – University of São Paulo at Ribeirão Preto College of Nursing, Ribeirão Preto, 2008.

The introduction of highly active antiretroviral therapy in the treatment of HIV infection significantly reduced the rates of morbidity and mortality related to immunodeficiency. However, the drug treatment is accompanied by various side effects, including the lipodystrophy syndrome (LD), characterized by morphological and metabolic changes. Although its pathogenesis is not totally clear, it is known that increased levels of some inflammatory cytokines are related to the development of LD. Several polymorphic sites have been described by influencing transcription of genes, leading the variations in the levels of cytokine production, such as the promoter region of interleukin-18 (IL-18 -607 C/A and IL-18 -137 C/G) and the interferon gamma gene (IFN-γ +874 T/A). Thus, this study typifies the polymorphism of the IL-18 and IFN-γ in 88 HIV-infected patients with LD, in 79 HIV-infected patients without LD, all under antiretroviral therapy and in 133 healthy controls, using the sequence-specific primers-polymerase chain reaction. This study was approved by the Ethics Committee at the place of study. The presence of -607A allele and -607AA genotype in IL-18 gene were significantly increased in HIV patients presenting LD as compared with HIV patients without LD, resulting in susceptibility to the development of LD. Conversely, the -607C allele and -607CC genotype were significantly increased in HIV patients without LD as compared with the HIV patients with LD, offering protection against LD. Haplotypes -137G/-607A and -137C/-607A, carrying the -607A allele, were also associated with susceptibility to LD. The haplotype -137G/-607C was strongly associated with protection against LD. No significant differences in IL-18 -137 and IFN-γ +874 genotype and allele distribution were observed in patients when compared to a control group. This is the first study evaluating the IL-18 and IFN-γ polymorphisms in LD and the results suggest that the promoter region of the IL-18 gene is associated with LD development in HIV-infected patients.

Keywords: HIV-1. HAART. HIV-Associated Lipodystrophy Syndrome. Genetic polymorphism. IL-18. IFN-gamma.

RESUMEN

CASTELAR, L. **Polimorfismo de la Interleucina-18 y del Interferón gamma en el síndrome de la lipodistrofia asociada a la terapia antirretroviral en portadores de VIH-1**. 2008. 106 h. Disertación (Maestría) – Escuela de Enfermeria de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

La introducción de la terapia antirretroviral de alta potencia en el tratamiento de la infección por el VIH redujo significativamente las tasas de morbilidad y mortalidad relacionadas a la inmunodeficiencia. Sin embargo, el tratamiento medicamentoso es acompañado de varios efectos colaterales, entre ellos el síndrome de la lipodistrofia (SL), caracterizada por alteraciones morfológicas y metabólicas. Aunque su patogenia no está totalmente esclarecida, se sabe que el aumento de los niveles de algunas citoquinas inflamatorias está relacionado con el desarrollo de la SL. Diversos sitios polimórficos han sido descritos porque influencian la transcripción de genes, llevando a variaciones en los niveles de producción de citoquinas, tales como aquellas de la región promotora de la interleucina-18 (IL-18 -607 C/A e IL-18 -137 C/G) y del gen del interferón gama (IFN-γ +874 T/A). Ante eso, ese estudio tipifico los polimorfismos de la IL-18 y del IFN-γ en 88 pacientes portadores del VIH con la SL, en 79 portadores del VIH sin la SL, todos bajo terapia antirretroviral, y en 133 individuos sanos, mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa con iniciadores de secuencia específica. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación. La presencia del alelo -607A y del genotipo -607AA en la IL-18 estaba significativamente aumentada en los pacientes portadores del VIH con SL cuando comparados a aquellos sin la SL, confiriendo susceptibilidad al desarrollo del síndrome. De manera opuesta, el alelo -607C y el genotipo -607CC estaban significativamente aumentados en pacientes portadores del VIH sin SL cuando comparados a aquellos con la SL, confiriendo protección al desarrollo del síndrome. Los haplotipos -137G/-607A y -137C/-607A, que comportan el alelo -607A, también estaban asociados con la susceptibilidad a la SL y el haplotipo -137G/-607C estaba fuertemente asociado con protección contra la SL. Ninguna diferencia significativa en la distribución alélica y genotípica de la IL-18 -137 y del IFN-γ +874 fueron observadas entre los grupos de pacientes y el grupo control. Este es el primer estudio que evaluó el polimorfismo de la IL-18 y del IFN-γ en la SL y los resultados sugieren que la región promotora de la IL-18 está asociada con el desarrollo de la SL en pacientes portadores del VIH.

Palabras clave: VIH-1. Terapia Antirretroviral Altamente Activa. Síndrome de Lipodistrofia Asociada a VIH. Polimorfismo genético. Interleucina-18. Interferón Tipo II.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo da replicação do HIV.. 18

Figura 2. Lipoatrofia facial.. 24

Figura 3. Lipoatrofia periférica com realce da circulação venosa.....24

Figura 4. Hipertrofia da gordura abdominal.....25

Figura 5. Hipertrofia da região dorsocervical - “corcova de búfalo” 25

Figura 6. Gel de poliacrilamida 10%.....44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Reagentes e concentrações utilizadas para a amplificação dos SNPs -607 e -137 da IL-18. 40

Tabela 2 - Iniciadores para detecção do polimorfismo do SNP -607 da IL-18. 40

Tabela 3 - Iniciadores para detecção do polimorfismo do SNP -137 da IL-18. 41

Tabela 4 - Condições de amplificação do SNP -607 da IL-18. 41

Tabela 5 - Condições de amplificação do SNP -137 da IL-18. 42

Tabela 6 - Condições específicas para eletroforese de cada SNP da IL-18. 43

Tabela 7 - Reagentes e concentrações utilizadas para a amplificação do SNP +874 do INF-γ.....45

Tabela 8 - Iniciadores para detecção do polimorfismo do SNP +874 do IFN-γ 45

Tabela 9 - Condições de amplificação do SNP +874 do IFN-γ.....46

Tabela 10 - Condições específicas para eletroforese do SNP +874 do IFN-γ.....46

Tabela 11- Características demográficas, dados laboratoriais e parâmetros metabólicos de pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia.....53

Tabela 12 - Esquemas terapêuticos com os anti-retrovirais utilizados pelos pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia. 54

Tabela 13 - Distribuição das freqüências dos alelos da IL-18 -607 entre os grupos de pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis. 55

Tabela 14 - Distribuição das freqüências dos alelos da IL-18 -137 entre os grupos de pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis. 56

Tabela 15 - Freqüências dos haplótipos da IL-18 entre os grupos de pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis. 58

Tabela 16 - Comparação dos haplótipos da IL-18 entre os grupos de pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia.....58

Tabela 17 - Distribuição das freqüências dos alelos do IFN-γ +874 entre os grupos de pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis. 60

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Distribuição da freqüência alélica da IL-18 -607 em pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis. 56

Gráfico 2. Distribuição da freqüência alélica da IL-18 -137 em pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis. 57

Gráfico 3. Distribuição da freqüência haplotípica da IL-18 em pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis. 59

Gráfico 4. Distribuição da freqüência alélica do IFN-γ +874 em pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis. 60

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 16
1.1 O Vírus da Imunodeficiência Humana 16
1.2 A síndrome da lipodistrofia 22
1.3 As citocinas inflamatórias e a síndrome da lipodistrofia 27
1.4 Polimorfismo da IL-18 e do IFN-γ 28
2 OBJETIVOS 33
2.1 Geral: 33
2.2 Específicos: 33
3 MATERIAL E MÉTODOS 35
3.1 Delineamento do estudo e aspectos éticos 35
3.2 Local do estudo 35
3.3 Indivíduos estudados 35
3.4 Pacientes com a síndrome da lipodistrofia 36
3.4.1 Critérios de inclusão 36
3.4.2 Critérios de exclusão 36
3.5 Pacientes sem a síndrome da lipodistrofia 37
3.5.1 Critérios de inclusão 37
3.5.2 Critérios de exclusão 37
3.6 Controles saudáveis 38
3.7 Coleta e processamento das amostras biológicas 38
3.7.1 Coleta de sangue 38
3.7.2 Extração do DNA 38
3.8 Tipificação dos polimorfismos da região promotora do gene da IL-18 39
3.8.1 Amplificação do DNA 39
3.8.2 Análise do produto amplificado 42
3.8.3 Coloração com nitrato de prata 43
3.8.4 Registro dos resultados 44
3.9 Tipificação do polimorfismo do gene do IFN-γ (SNP +874) 44
3.9.1 Amplificação do DNA 44
3.10 Análise Estatística 46
3.10.1 Estimativa das freqüências alélicas e genotípicas 46
3.10.2 Teste exato de diferenciação populacional 47

3.10.3 Aderências ao equilíbrio de Hardy-Weinberg 47
3.10.4 Desequilíbrio de ligação entre os locos e inferência de haplótipos da IL-18 48
4 RESULTADOS 51
4.1 Caracterização das amostras 51
4.1.1 Pacientes com a síndrome da lipodistrofia 51
4.1.2 Pacientes sem a síndrome da lipodistrofia 52
4.2 Tipificação dos polimorfismos da região promotora do gene da IL-18 54
4.2.1 IL-18 -607 C/A 54
4.2.2 IL-18 -137 C/G 56
4.2.3 Inferência de haplótipos da IL-18 57
4.3 Tipificação do polimorfismo do gene do IFN-γ (SNP +874) 59
5 DISCUSSÃO 62
6 CONCLUSÕES 69
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS 71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 73
APÊNDICES 86
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 86
APÊNDICE B - Ficha de acompanhamento 87
APÊNDICE C - Caracterização dos pacientes 88
ANEXOS 105
ANEXO A - Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa 105
ANEXO B - Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa 106

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 O Vírus da Imunodeficiência Humana

A história do vírus da imunodeficiência humana (*Human Immunodeficiency Virus* - HIV) se inicia com o isolamento e a caracterização dos primeiros retrovírus humanos descritos: o *human T-cell leukaemia vírus type I* (HTLV-I) (KALYANARAMAN et al., 1981; POIESZ et al., 1980; REITZ et al., 1981; RHO et al., 1981; ROBERT-GUROFF et al., 1981) e o *human T-cell leukaemia vírus type II* (HTLV-II) (KALYANARAMAN et al., 1982) no início da década de 1980. Praticamente em simultaneidade, vários pesquisadores diagnosticaram uma nova doença, a aids, em grupos de homens homossexuais jovens.

Nessa época, dois grupos de pesquisa, um dos Estados Unidos, coordenado por Robert Gallo, e um da França, sob os comandos de Luc Montagnier, se destacaram nas pesquisas que identificaram o HIV. Em 1983, Gallo propôs que a aids era provavelmente causada por um retrovírus, presumivelmente uma variante do HTLV-I ou II, sendo o novo vírus denominado de HTLV-III. No mesmo ano, Montagnier e seus colaboradores identificaram um novo retrovírus humano ao qual chamaram de LAV (*lymphadenopathy-associated vírus*) em referência à síndrome da linfoadenopatia (*lymphadenopathy syndrome*) apresentada pelo primeiro paciente do qual o novo vírus foi isolado.

A partir do momento em que se constatou que os dois vírus identificados eram o mesmo, assumiu-se a denominação de HTLV-III/LAV, pelo reconhecimento do trabalho de pesquisa dos dois grupos. Em 1985, após a determinação da estrutura do genoma do vírus da aids, foi sugerido um simples e genérico nome – o termo HIV – *human immunodeficiency vírus* (GALLO; MONTAGNIER, 1987). No ano

seguinte, um segundo tipo de HIV, o HIV-2, foi isolado de pacientes do oeste africano (CLAVEL et al., 1986).

O HIV é membro da família Retroviridae, na subfamília dos lentivírus. Sua forma é esférica, tendo aproximadamente 100nm de diâmetro, com um núcleo viral constituído de duas fitas de RNA e proteínas estruturais estabilizadas por um capsídeo protéico, circundado por um envelope externo composto por glicoproteínas em uma membrana lipídica (HASELTINE, 1991). O genoma do HIV apresenta três genes estruturais principais – gag, pol e env. O gene gag codifica um precursor que, ao ser clivado pela enzima protease viral, origina várias proteínas estruturais/organizacionais, dentre elas as proteínas da matriz, do capsídeo e associadas ao ácido nucléico. O gene polimerase (pol) produz as enzimas protease, transcriptase reversa e integrase e o gene env, por sua vez, uma proteína glicosilada do envelope viral que ao ser clivada por proteases celulares são convertidas em glicoproteínas de superfície e transmembrana, que contribuem para a formação do envelope viral (VAISHNAV; WONG-STALL, 1991; WANG et al., 2000).

O ciclo de vida do HIV no organismo humano se inicia com a ligação de glicoproteínas virais ao receptor presente na superfície das células alvo, principalmente o linfócito T $CD4^+$. A infecção ocorre com a fusão do envelope do vírus com a membrana da célula hospedeira e a liberação do núcleo viral para seu citoplasma. Com o auxílio da enzima transcriptase reversa, o RNA viral é transcrito em DNA complementar e transportado para o núcleo da célula onde poderá ser integrado no genoma (provírus), por intermédio da ação da enzima integrase. O provírus é reativado e produz RNA mensageiro que é encaminhado para o citoplasma. Como conseqüência, ocorre a produção de proteínas virais que são clivadas em subunidades pela enzima protease. Essas proteínas regulam a síntese

de novos genomas virais e formam a estrutura externa de outros vírus que serão liberados pela célula hospedeira - o vírion, como é chamada a nova partícula viral, que quando fora da célula hospedeira, pode permanecer no fluído extracelular ou infectar novas células (BRASIL, 1999). A Figura 1 ilustra o ciclo de replicação do HIV.

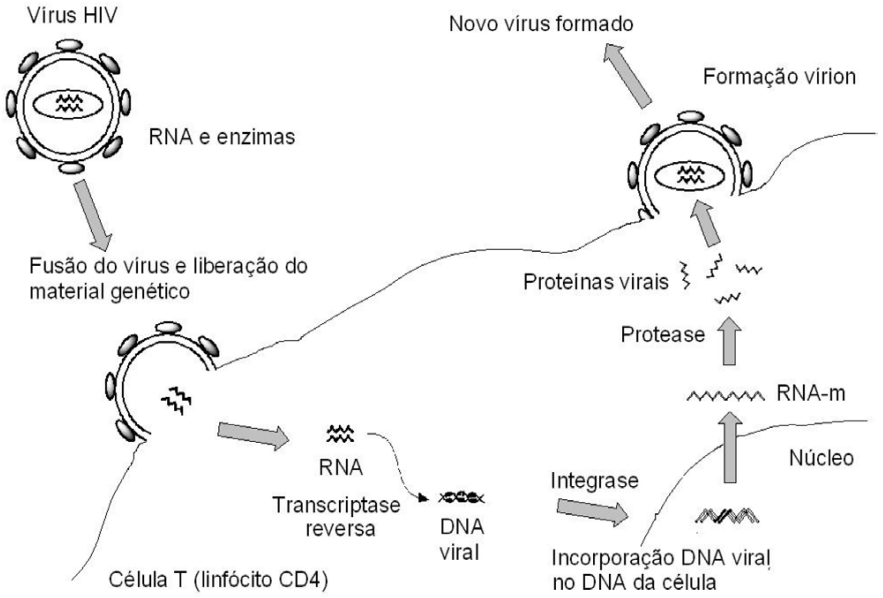

Figura 1. Ciclo da replicação do HIV. Adaptado de Cunico, Gomes e Vellasco Jr (2008).

As formas de transmissão do HIV são por via sexual, sangüínea, e perinatal e a sua infecção pode ser dividida em quatro fases clínicas: infecção aguda; fase assintomática; fase sintomática inicial e aids. A infecção aguda ocorre em cerca de 50% a 90% dos pacientes e o tempo entre a exposição e os sintomas é de cinco a 30 dias. Durante essa fase ocorre um pico de viremia e diminuição do número de células T $CD4^+$, o que pode resultar em variadas manifestações clínicas que vão desde um quadro gripal característico até os sinais e sintomas mais gerais de infecção viral como febre, adenopatia, faringite, mialgia, artralgia, perda de peso, náuseas e vômitos. Após a cessação dos sintomas ocorre a estabilização da viremia

e aumento dos linfócitos T $CD4^+$, que geralmente, não retornam aos níveis prévios à infecção (BRASIL, 1999).

A fase assintomática, também chamada de latência clínica, pode durar vários anos (KEET et al., 1994; LEARMONT et al., 1992). Nesse período, a carga viral no sangue periférico é relativamente baixa e os pacientes não apresentam achados ao exame, exceto linfadenopatia persistente generalizada, ocorrendo replicação viral nos centros germinativos dos linfonodos e em outros tecidos linfóides secundários (EMBRETSON et al., 1993; PANTALEO et al., 1993). Com o decorrer do tempo, a arquitetura dos linfonodos é rompida e ocorre a disseminação do vírus para a circulação, o que culmina em um declínio progressivo dos linfócitos T $CD4^+$ e no aparecimento de manifestações clínicas. A fase sintomática inicial apresenta-se com o aparecimento de sinais e sintomas que ocorrem em deficiências imunes de forma geral – sudorese noturna, emagrecimento, fadiga - além de processos oportunistas de menor gravidade como: candidíase oral e vaginal, leucoplasia pilosa oral, úlceras aftosas, diarréia, sinusopatias, herpes simples recorrente e herpes zoster. Nesse período, a contagem das células T $CD4^+$ encontra-se entre 200 e 300 células/mm^3.

A síndrome da imunodeficiência adquirida, a aids propriamente dita, é a fase da infecção pelo HIV em que se instalam as doenças oportunistas, que são geralmente de origem infecciosa, além de várias neoplasias, que também podem ser consideradas oportunistas. Devido ao comprometimento do sistema imune, algumas infecções podem ser causadas por organismos que usualmente não são considerados patogênicos, como por exemplo, a micobacteriose – causada pela *Mycobacterium avium-intracellulare*. Dentre as neoplasias, destacam-se o sarcoma de Kaposi e os linfomas não-Hodgkin (BRASIL, 1999). Nesse estágio, a contagem de linfócitos T $CD4^+$ está, na maioria das vezes, abaixo de 200 células/mm^3.

Epidemiologicamente, o HIV é encontrado em todos os continentes do mundo. A África sub-saariana lidera em número de casos com aproximadamente 22 milhões de infectados, seguida do sul e sudeste asiático com 4,2 milhões e da América Latina, com 1,7 milhões de portadores (UNAIDS, 2008). No ano de 2007, estimou-se um total de 33 milhões de pessoas vivendo com HIV/aids no mundo, com 2,7 milhões de novas infecções e 2 milhões de mortes. Foram constatadas mais de 7400 novas infecções ao dia, sendo aproximadamente 6300 em maiores de 15 anos, das quais cerca de 50% foram em mulheres e perto de 45% em jovens de 15 a 24 anos (UNAIDS, 2008).

No Brasil, desde a identificação do primeiro caso de aids, em 1980, até junho de 2007, já foram identificados cerca de 474 mil casos da doença e desses, aproximadamente 289 mil na região Sudeste (BRASIL, 2008a). A cidade de Ribeirão Preto ocupou o terceiro lugar em número de casos notificados no Estado de São Paulo em 2007, fazendo com que este se apresente como um dos mais relevantes problemas de saúde pública (SÃO PAULO, 2007).

O tratamento da infecção pelo HIV é baseado em combinações de drogas anti-retrovirais, e recebe o nome de terapia anti-retroviral de alta potência (*Highly Active Antiretroviral Therapy* - HAART). Os principais objetivos do tratamento anti-retroviral são: reduzir morbidade e mortalidade associada ao HIV; melhorar a qualidade de vida; preservar e quando possível restaurar o sistema imunológico e suprimir de forma sustentada a replicação viral (BRASIL, 2008b). Estão disponíveis atualmente no Brasil 19 anti-retrovirais diferentes, subdivididos em cinco classes.

Os Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos (ITRN) atuam por inibição competitiva da transcriptase reversa do HIV e também podem ser incorporados na cadeia de DNA viral em crescimento, causando a sua interrupção.

Cada um desses inibidores exige ativação intracitoplasmática em conseqüência da fosforilação por enzimas celulares à forma trifosfato (KATZUNG, 2005). Fazem parte dessa classe os medicamentos Abacavir, Didanosina, Estavudina, Lamivudina, Zidovudina, e a combinação Zidovudina+Lamivudina.

Os Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleotídeos (ITRNt) atuam de forma semelhante aos ITRN, porém, já se apresentam pré-fosforilados, necessitando de uma etapa a menos de fosforilação que os ITRN (KATZUNG, 2005). Nessa classe, encontra-se unicamente o medicamento Tenofovir.

Os Inibidores da Transcriptase Reversa não-Análogos de Nucleosídeos (ITRNN) ligam-se diretamente a um sítio na transcriptase reversa do HIV-1, resultando em bloqueio das atividades da DNA polimerase (RNA e DNA-dependente). Ao contrário do grupo dos ITRN, os ITRNN não competem com trifosfato de nucleosídeos nem necessitam de fosforilação para serem ativos (KATZUNG, 2005). A essa classe pertencem os medicamentos Efavirenz e Nevirapina.

A classe dos Inibidores de Protease (IP) atua de forma a inibir a atividade da enzima protease viral, o que resulta no bloqueio da clivagem de poliproteínas do vírus, levando à produção de partículas imaturas e não-infecciosas (LAMBERT et al., 1992). Estão nessa classe os medicamentos Amprenavir, Indinavir, Nelfinavir, Ritonavir, a combinação Lopinavir+Ritonavir, Saquinavir, Atazanavir, Fosamprenavir e Darunavir.

Por último, está a classe dos Inibidores de Fusão (IF). O medicamento disponível é o Enfuvirtida, que impede a interação das proteínas do envelope viral com os receptores da superfície da célula alvo, dificultando a fusão da membrana viral com a membrana celular e a entrada do vírus na célula (KATZUNG, 2005).

As indicações para o início do tratamento com os anti-retrovirais dependem de vários fatores. É preciso considerar que a terapia medicamentosa não é uma

emergência e só deve ser iniciada quando as devidas avaliações clínica e laboratorial forem realizadas, determinando, dessa forma, o grau de imunodeficiência existente e o risco de progressão da doença. O tratamento pode ser recomendado em indivíduos assintomáticos, com contagem de linfócitos T $CD4^+$ entre 200 e 350/mm^3. Quanto mais próxima de 200 células/mm^3 estiver a contagem de T $CD4^+$, maior é o risco de progressão para aids, especialmente se associada à carga viral plasmática elevada (maior que 100.000 cópias/mm^3). Nesses indivíduos, a decisão de iniciar tratamento dependerá da tendência de queda da contagem de linfócitos T $CD4^+$ e/ou de elevação da carga viral, da motivação do paciente para iniciar o tratamento, sua capacidade de adesão e a presença de co-morbidades (BRASIL, 2008b).

No Brasil, a política do Ministério da Saúde para a assistência aos indivíduos infectados pelo HIV inclui um programa de acesso universal e gratuito aos medicamentos anti-retrovirais na rede pública de saúde. Esse programa, iniciado no começo da década de 90 e consolidado em 1996 com o Decreto nº 9.313 de 13 de novembro de 1996, garante a todos pacientes infectados pelo HIV o acesso gratuito a toda medicação necessária ao seu tratamento e beneficia, atualmente, mais de 187 mil pacientes (BRASIL, 2008c).

1.2 A síndrome da lipodistrofia

O tratamento e controle da infecção pelo HIV são devidos, em grande parte, ao avanço na terapia com os medicamentos anti-retrovirais. Passando de inicialmente monoterápica para uma combinação de drogas, atualmente conseguiu modificar o curso da infecção de uma doença fatal para crônica, com diminuição nas taxas de mortalidade (PALELLA et al., 1998).

Devido ao fato da terapia medicamentosa não ser capaz de erradicar a infecção pelo HIV (FINZI et al., 1999), torna-se necessário seu uso prolongado para o controle da multiplicação viral. Como conseqüência da exposição prolongada aos anti-retrovirais, diversos efeitos colaterais têm sido descritos (NUESCH et al., 2006; VALLE; HARAGSIM, 2006) e, dentre eles, a síndrome da lipodistrofia - SL (CARR et al., 1998a; SHAW; McLEAN; EVANS, 1998; VIRABEN; AQUILINA, 1998).

SL caracteriza-se pelo desenvolvimento de anormalidades morfológicas (alterações na distribuição corpórea de gorduras) e metabólicas, que podem ocorrer juntas ou independentemente umas das outras (LICHTENSTEIN, 2005).

As anormalidades morfológicas podem ser classificadas em 3 categorias:

1- lipoatrofia periférica: manifestada por lipoatrofia em face, nádegas, braços e pernas, com conseqüente realce da circulação venosa periférica (Figuras 2 e 3);

2- lipohipertrofia: acúmulo de gordura na região abdominal central (Figura 4), mamas e na região dorsocervical, também denominada “corcova de búfalo” (Figura 5);

3- forma mista: caracterizada pela associação de manifestações das duas formas descritas anteriormente (CARR et al., 1998b; SHAW; McLEAN; EVANS, 1998).

Tais alterações marcam a aparência física de seus portadores de tal modo que a configuração peculiar da gordura corporal, destacando-se a acentuada protuberância da região abdominal e o afinamento dos membros superiores e inferiores, além da intensa perda de gordura na face - o que parece ser a mais marcante característica da síndrome - podem revelar a condição de soropositivo com mais evidência. Essas profundas modificações na aparência contribuem para o surgimento de estigmas, para a exclusão social, redução da auto-estima, redução da aderência à terapia anti-retroviral e, conseqüentemente, redução da qualidade de vida

(DURAN et al., 2001; SANCHES, 2008). Diante dessas alterações causadas pela síndrome, torna-se necessário um aprofundamento no entendimento desta patologia, para que seja sistematizada uma assistência de enfermagem que abranja as necessidades fisiológicas e psicológicas desses pacientes.

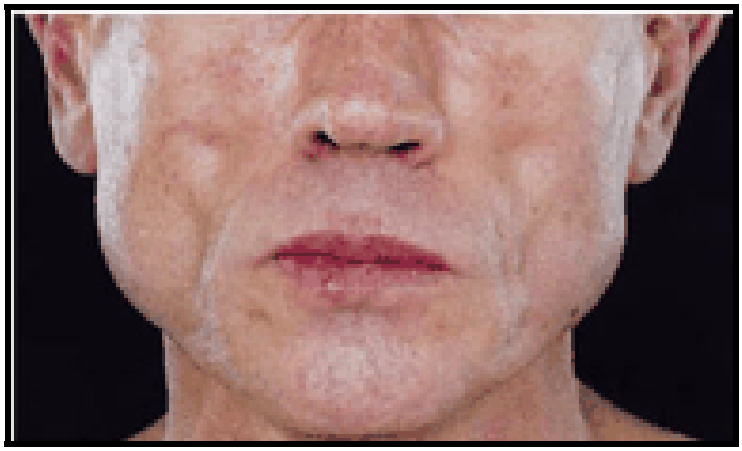

Figura 2. Lipoatrofia facial. Adaptado de Carr e Cooper (1998).

Figura 3. Lipoatrofia periférica com realce da circulação venosa. Adaptado de Fuller (2008).

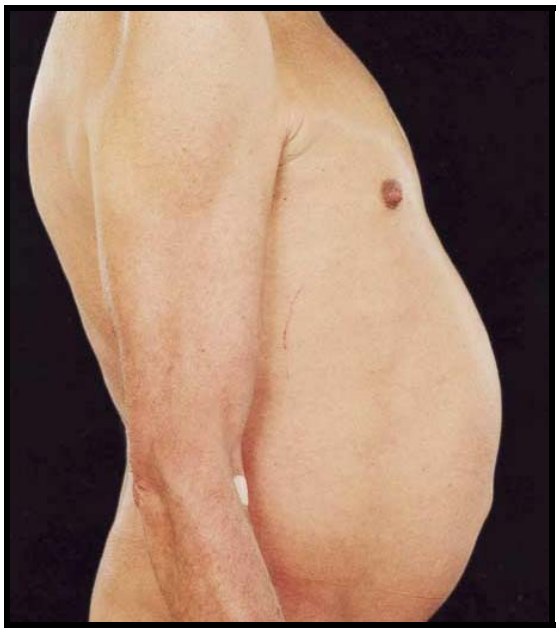

Figura 4. Hipertrofia da gordura abdominal. Adaptado de Carr e Cooper (1998).

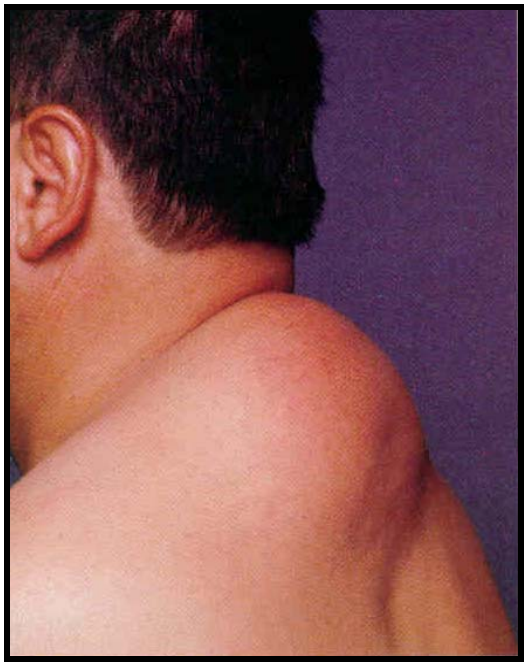

Figura 5. Hipertrofia da região dorsocervical - "corcova de búfalo". Adaptado de Aboulafia e Bundow (1998).

As anormalidades metabólicas compreendem as dislipidemias, com aumento nos níveis sangüíneos de colesterol total, LDL-colesterol, triglicérides e diminuição de HDL-colesterol, intolerância à glicose, resistência à insulina e, em casos mais graves, o diabetes mellitus (CARR et al., 1999; HADIGAN et al., 2001; STEIN et al., 2001).

Apesar de ser amplamente descrito que o desenvolvimento desta síndrome esteja associado ao uso de inibidores da protease viral (BOCKHORST et al., 2003; CARR et al., 1998b; CIANFLONE et al., 2006), a SL também tem sido relatada após o uso de inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (BRINKMAN et al., 1999; LO, et al., 1998; MADGE et al., 1999). Além disso, o seu desenvolvimento tem sido verificado após 12 meses de tratamento anti-retroviral (HEATH et al., 2002).

A prevalência das alterações morfológicas, descritas em alguns trabalhos em outros países, apontam grande variação de freqüência para seu surgimento, cujo acometimento pode ser observado em cerca de 8 a 83% dos pacientes (CAPILUPPI et al., 2000; CARR et al., 1999). Um estudo recente descreveu a prevalência de 55% em pacientes brasileiros (DIEHL et al., 2008). Essa grande variação deve-se ao fato de que critérios para o diagnóstico dessa síndrome ainda não estão bem estabelecidos, sendo feito, principalmente, com base em julgamentos clínicos.

A dislipidemia é comum em pacientes infectados pelo HIV recebendo HAART, com destaque para a presença dos IP, e é observada em até cerca de 70% dos pacientes (CARR et al., 1999; TOMAZIC et al., 2004). Uma das principais conseqüências da dislipidemia é o surgimento precoce de doença cardiovascular nesses pacientes (BARBARO, 2005), com risco aumentado para o infarto do miocárdio (HOLMBERG et al., 2002; RICKERTS et al., 2000). Também associada ao uso prolongado da HAART está a resistência à insulina. Essa alteração do metabolismo da glicose contribui para o risco

aumentado de desenvolvimento do diabetes mellitus, cuja prevalência atinge até 14% desses pacientes (BROWN et al., 2005).

Embora exista uma forte associação entre a terapia anti-retroviral com o surgimento da lipodistrofia (CARR et al., 1998b; GALLI et al., 2003; GUARALDI et al., 2003), principalmente com uso prolongado de IP e ITRN, a patogenia dessa síndrome ainda não foi totalmente esclarecida. Além de alguns fatores de cunho individual como gênero, idade, duração e gravidade da infecção pelo HIV (LICHTENSTEIN et al., 2001; LICHTENSTEIN et al., 2003; MARTINEZ et al., 2001), o estado inflamatório presente em pacientes com SL sob terapia anti-retroviral também tem sido descrito como um participante no processo de desenvolvimento da SL (LAGATHU et al., 2004; SEVASTIANOVA et al., 2008).

1.3 As citocinas inflamatórias e a síndrome da lipodistrofia

Citocinas são proteínas secretadas por células do sistema imune em resposta a microrganismos e outros antígenos, e diferentes citocinas podem estimular respostas das células envolvidas na imunidade e inflamação (ABBAS; LICHTMAN, 2005). Existem subpopulações de células T $CD4^+$, conhecidas como células T efetoras, que produzem diferentes citocinas. As subpopulações mais bem definidas dessas são as células T auxiliares, também designadas como células T helper (T_H1 e T_H2). As células T_H1 secretam principalmente uma citocina conhecida como interferon gama (IFN-γ), que proporciona uma resposta imune do tipo inflamatória. Já as células T_H2 produzem principalmente a interleucina-4 (IL-4) e a IL-10, que exercem ações anti-inflamatórias (ABBAS; LICHTMAN, 2005).

Vários estudos têm proposto a relação entre a elevada atividade inflamatória e alterações no tecido adiposo no curso da infecção pelo HIV e, além disso, o

desenvolvimento da atividade inflamatória parece ser conseqüência do uso da HAART (LAGATHU et al., 2004; LEDRU et al., 2000; MYNARCIK et al., 2000).

Altos níveis de expressão de citocinas inflamatórias como o Fator de Necrose Tumoral (TNF), IL-6, IL-8 e IL-18 foram encontrados no tecido adiposo subcutâneo de pacientes portadores da SL (JAN et al., 2004; JOHNSON et al., 2004; LIHN et al., 2003; LINDEGAARD et al., 2004a). Adicionalmente, e de maneira sistêmica, altos níveis sanguíneos de IL-6, IL-18 e Interferon-α (IFN-α) foram encontrados (CHRISTEFF et al, 2002; JOHNSON et al., 2004; LINDEGAARD et al., 2004b). Ademais, o TNF, à semelhança de outras citocinas inflamatórias como a IL-6, já foi descrito como ativador da lipólise em adipócitos (GASIC; TIAN; GREEN, 1999; TRUJILLO et al., 2004).

Existe uma associação nas ações das citocinas, ou seja, elas atuam em uma seqüência de eventos. Uma das funções do TNF é estimular a produção de IL-18 e, em resposta, a IL-18 colabora como um estímulo para a produção de TNF (PUREN et al., 1998). A IL-18 também induz o IFN-γ (BARBULESCU et al., 1998).

1.4 Polimorfismo da IL-18 e do IFN-γ

Os seres humanos apresentam um elevado grau de variação genética e toda variação se origina de um processo chamado mutação, ou seja, uma mudança na seqüência do DNA. Essas seqüências diferentes de DNA são chamadas de alelos e a localização de um gene no cromossomo é chamada de *locus*. Os alelos presentes em determinado *locus* constituem o genótipo de um indivíduo. Um *locus* é considerado polimórfico se possuir dois ou mais alelos cujas freqüências sejam iguais ou maiores que 1%. Esse *locus* polimórfico pode ser chamado simplesmente de polimorfismo (JORDE et al., 2000). O tipo mais simples de polimorfismo é uma mutação em uma única base da

seqüência de DNA, que substitui um nucleotídeo por outro, sendo conhecido como polimorfismo de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphism* - SNP).

Recentemente, estudos de polimorfismos genéticos de citocinas inflamatórias associados às doenças têm sido descritos (KANBUR et al., 2008; NIKITEAS et al., 2007; REIMAN et al., 2008). Esses polimorfismos, em certos casos, influenciam a transcrição do gene, ocasionando variações nos níveis de produção das citocinas (GIEDRAITIS et al., 2001). Existem poucos estudos de associação de polimorfismos de citocinas na SL (ASENSI et al., 2008; MAHER et al., 2002; NOLAN et al., 2003a; SAUMOY et al., 2008) e nenhum, até o momento, relacionado com o polimorfismo da IL-18 e do IFN-γ nessa síndrome.

A IL-18 é uma citocina pró-inflamatória que potencializa respostas imunes do tipo T_H1 e co-estimula a produção de outras citocinas pró-inflamatórias, como IFN-γ, TNF-α e IL-1β (OKAMURA et al., 1995; PUREN et al., 1998). A IL-18 é produzida por vários tipos celulares como monócitos/macrófagos, osteoblastos, células de Kupffer, além dos adipócitos (LINDEGAARD et al., 2004a; OKAMURA et al., 1995; SKURK et al., 2005; UDAGAWA et al., 1997).

Alterações dos níveis de IL-18 em diversos distúrbios metabólicos, associados ou não com a infecção pelo HIV, a exemplo da obesidade, resistência à insulina, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares e da própria SL, sugerem o seu envolvimento na patogênese dessa síndrome (BRUUN et al., 2007; CHEN et al., 2007; LINDEGAARD et al., 2004b; THORAND et al., 2005).

O gene da IL-18, localizado no cromossomo 11q22.2–22.3 (NOLAN; GREAVES; WALDMANN, 1998), apresenta em sua região promotora vários polimorfismos (GIEDRAITIS et al., 2001). Dois SNPs localizados nas posições –607 (C/A) e –137 (C/G) são conhecidos por influenciarem a ligação de fatores de transcrição e modificarem a

atividade transcricional do gene da IL-18, alterando os níveis de produção dessa citocina (GIEDRAITIS et al., 2001).

Vários autores relatam a associação da IL-18 na indução da produção de IFN-γ (BARBULESCU et al., 1998; OKAMURA et al., 1995). O IFN-γ é uma citocina pleiotrópica, expressa por células T ativadas, células *Natural Killer* (KASAHARA et al., 1983; TRIPP; WOLF; UNANUE, 1993) e outros tipos celulares como macrófagos (FENTON et al., 1997). Sua ação geralmente resulta na ativação de macrófagos e na diferenciação de células T, promovendo uma resposta imune do tipo T_H1 (BARBULESCU et al., 1998).

O gene do IFN-γ encontra-se no braço longo do cromossomo 12(q24.1) (TRENT; OLSON; LAWN, 1982). Tem sido descrito que a sua produção está relacionada ao polimorfismo de um SNP, localizado na posição +874 (T/A) (PRAVICA et al*.,* 2000). De maneira similar a IL-18, o IFN-γ também tem sido associado a diversas alterações metabólicas - em pacientes não portadores do HIV - que apresentam semelhanças com os distúrbios causados pela SL, como a obesidade e a aterosclerose (GUPTA et al., 1997; ROCHA et al., 2008).

Tendo em vista os achados na literatura e considerando:

1- que a patogenia da SL ainda não se encontra totalmente elucidada;

2- que o Brasil é reconhecido mundialmente pela vanguarda na política de acesso universal e gratuito aos medicamentos anti-retrovirais que, altualmente, beneficia quase 190 mil pacientes;

3- a grande prevalência da SL em portadores do HIV sob terapia anti-retroviral, sendo que, no Brasil, apresenta-se em mais da metade dos pacientes;

4- o impacto da SL na morbidade dos pacientes, seja devido às doenças associadas à dislipidemia ou mesmo às repercussões psicossociais das alterações

morfológicas, que requerem o desenvolvimento de intervenções especializadas na assistência de enfermagem;

5- que a IL-18 e o IFN-γ exercem ações complementares na indução da resposta imune inflamatória;

6- que a presença de níveis aumentados de citocinas inflamatórias, como a IL-18, em pacientes com a SL sugere associação com o seu desenvolvimento;

7 - que a produção de citocinas é geneticamente controlada,

nesse estudo avaliou-se a associação dos polimorfismos da IL-18 (SNPs -607 e -137) e do IFN-γ (SNP +874) no desenvolvimento da SL em pacientes portadores do HIV-1.

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 Geral:

Avaliar o polimorfismo da região promotora da IL-18 e do gene do INF-γ em portadores do HIV-1 sob terapia anti-retroviral, que apresentem ou não a síndrome da lipodistrofia, e em indivíduos saudáveis.

2.2 Específicos:

- Associar as diferentes classes de anti-retrovirais com a presença da síndrome da lipodistrofia;
- Tipificar o polimorfismo da região promotora da IL-18 (SNPs -607 e -137) e do gene do INF-γ (SNP +874) em portadores do HIV-1, que apresentem ou não a síndrome da lipodistrofia, e em indivíduos saudáveis;
- Detectar associações entre os polimorfismos acima mencionados com a ocorrência ou não da síndrome da lipodistrofia em portadores do HIV-1 sob terapia anti-retroviral.

Material e métodos

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo e aspectos éticos

Trata-se de estudo transversal, comparativo, descritivo, que visou a determinação dos polimorfismos da IL-18 (SNPs -607 C/A e -137 C/G) e do IFN-γ (+874 T/A) em pacientes portadores da infecção pelo HIV-1, que apresentavam ou não a síndrome da lipodistrofia, e em indivíduos saudáveis.

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), processo nº 5761/2007 (Anexo A). O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi assinado pelos participantes (Apêndice A).

3.2 Local do estudo

O estudo foi realizado com os pacientes atendidos pelo serviço do ambulatório da Unidade Especial de Tratamento de Doenças Infecciosas (UETDI) do HCFMRP-USP. A UETDI é uma unidade altamente especializada que dirige sua atenção especificamente a portadores do HIV-1. Essa unidade é dividida em três categorias de atendimento: internação, hospital-dia e ambulatório, servindo de referência para a cidade de Ribeirão Preto e região.

3.3 Indivíduos estudados

Foram incluídos e avaliados 167 indivíduos portadores do HIV, dentre esses, 88 pacientes com a SL e 79 pacientes sem a SL, de acordo com os critérios de

inclusão e exclusão. Além dos pacientes, 133 indivíduos saudáveis foram utilizados como controle. Os dados pessoais, clínicos e laboratoriais dos pacientes incluídos neste estudo foram coletados por meio de entrevista utilizando-se uma ficha de acompanhamento (Apêndice B) e de consulta aos prontuários médicos. A caracterização de todos os pacientes com ou sem a síndrome da lipodistrofia está apresentada no Apêndice C.

3.4 Pacientes com a síndrome da lipodistrofia

Foram selecionados 88 pacientes conforme critérios elencados abaixo:

3.4.1 Critérios de inclusão

- Pacientes com sorologia positiva para o HIV-1;
- Pacientes de ambos os sexos, adultos, com idades entre 18 e 65 anos;
- Pacientes que estejam recebendo terapia anti-retroviral por no mínimo 18 meses;
- Pacientes que apresentem a SL;
- Pacientes que concordarem em participar do estudo.

3.4.2 Critérios de exclusão

- Pacientes com sorologia negativa para o HIV-1;
- Pacientes com sorologia positiva para o HIV-1 e que não estejam recebendo terapia anti-retroviral;
- Pacientes que não apresentem a SL;
- Pacientes que não concordarem em participar do estudo.

As alterações morfológicas dos pacientes portadores da SL foram identificadas com base na concordância entre os relatos dos próprios pacientes e observações de clínicos e da pesquisadora sobre as alterações na forma corporal.

3.5 Pacientes sem a síndrome da lipodistrofia

Foram selecionados 79 pacientes conforme critérios elencados abaixo:

3.5.1 Critérios de inclusão

- Pacientes com sorologia positiva para o HIV-1;
- Pacientes de ambos os sexos, adultos, com idades entre 18 e 65 anos;
- Pacientes que estejam recebendo terapia anti-retroviral por no mínimo 18 meses;
- Pacientes que não apresentem a SL;
- Pacientes que concordarem em participar do estudo.

3.5.2 Critérios de exclusão

- Pacientes com sorologia negativa para o HIV-1;
- Pacientes com sorologia positiva para o HIV-1, que não estejam recebendo terapia anti-retroviral;
- Pacientes que apresentem a SL;
- Pacientes que não concordarem em participar do estudo.

3.6 Controles saudáveis

Foram selecionados como controles saudáveis 133 indivíduos, 29 do sexo feminino e 104 do sexo masculino, com idades que variaram de 21 a 51 anos (média = 33,46 anos), todos doadores de medula óssea do Hemocentro de Ribeirão Preto, sem história de doenças infecto-contagiosas, crônicas e/ou auto-imunes. Estes indivíduos controle fazem parte do Banco de Amostras do Núcleo de Pesquisa em Imunogenética, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, processo nº 7581/2007 (Anexo B).

3.7 Coleta e processamento das amostras biológicas

3.7.1 Coleta de sangue

Foram colhidos 10 mL de sangue venoso periférico de cada indivíduo em tubos Vacutainer (Beckton & Dickinson, USA) contendo EDTA K3 (0.054mL/tubo) para a extração de DNA genômico e posterior avaliação do polimorfismo da IL-18 e do INF-γ.

3.7.2 Extração do DNA

O DNA foi extraído por “salting out” a partir de células do sangue periférico, utilizando-se o procedimento descrito por Miller, Dykes e Polesky (1988). Resumidamente, 10 mL do sangue total foram transferidos para um tubo de polipropileno de 50 mL, sendo adicionados 4 volumes de tampão de lise de glóbulos vermelhos (sacarose 3M, TRIS-HCl 10 mM, MgCl 5 mM e TRITON X100 a 1%). A solução foi homogeneizada por inversão e centrifugada a 2400xg, por 5 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi cuidadosamente desprezado e ao precipitado foram adicionados 5 mL de tampão de lise de glóbulos brancos (NaCl 0,075 M, Na-EDTA

0,024 M, NaClO4H2O 25 mM e SDS a 2,5%). A preparação foi agitada vigorosamente por 10 segundos à temperatura ambiente. Para a extração de proteínas, foram adicionados 2,0 mL de NaCl a 6,0 M, agitando-se os tubos vigorosamente por 15 segundos. Após a centrifugação a 1500xg por 5 minutos à temperatura ambiente, o sobrenadante foi recolhido em um tubo de polipropileno de 50 mL, sendo adicionados 7 mL de isopropanol absoluto. A precipitação do DNA ocorreu por inversão manual lenta. O DNA precipitado foi então retirado com auxílio de uma pipeta Pasteur selada. O DNA foi lavado 2 vezes em 3 mL de etanol a 70% e redissolvido em 100 a 300 μL de água bidestilada deionizada esterilizada (H_2Odd). O material foi estocado a -20ºC até o momento da análise.

3.8 Tipificação dos polimorfismos da região promotora do gene da IL-18

3.8.1 Amplificação do DNA

As reações de amplificação para a região promotora do gene da IL-18 (SNPs -607 C/A e -137 C/G) foram realizadas pela técnica da Reação em Cadeia da Polimerase com iniciadores de seqüência específica (*Polymerase Chain Reaction - sequence-specific primers* – PCR-SSP) utilizando-se 200 ng de DNA de cada amostra. Os reagentes para cada loco tipificado foram colocados em microtubos de 0,2 mL, atingindo o volume final de 10 µL. Como controle interno, foram utilizados os iniciadores HGBA.A e HGBA.S (genes da hemoglobina humana). Todas as reações foram feitas em um termociclador Biocycler MJ96G. Os reagentes e as concentrações finais utilizadas estão listados na Tabela 1. Os iniciadores específicos para cada variante estão descritos nas Tabelas 2 e 3 e as condições de amplificação estão listadas nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 1 - Reagentes e concentrações utilizadas para a amplificação dos SNPs -607 e -137 da IL-18.

Reagente	Concentração
H_2Odd	
Tampão [a]	1x
$MgCl_2$ [b]	1,5 mM
DNTP [c]	0,25 mM
HGBA.S	2 pmol
HGBA.A	2 pmol
607A/ 607C	3 pmol
137C/137G	3 pmol
607.2/137.2	3 pmol
Taq polimerase	0,75 U
DNA	200 ng
Volume final	10 µL

[a] 20 mM Tris-Cl, pH 8.4, 50 mM KCl, [b] cloreto de magnésio, [c] dNTP 2'deoxinucleosídeo 5' trifosfato

Tabela 2 - Iniciadores para detecção do polimorfismo do SNP -607 da IL-18.

Iniciadores	Seqüência (5'- 3')	Amplicon	Alvo	Referência
IL-18 607.2 IL-18 Genérico	TAACCTCATTCAGGACTTCC			
IL-18 607C IL-18 Específico	GTTGCAGAAAGTGTAAAAATTATTAC	196 pb	IL-18 - 607 A/C	Giedraitis et al., 2001
IL-18 607A IL-18 Específico	GTTGCAGAAAGTGTAAAAATTATTAA			
HGBA.S	CGGTATTTGGAGGTCAGCAC	456 / 436 pb	Controle	Nosso Laboratório
HGBA.A	CCCACCACCAAGACCTACTT		Controle	Nosso Laboratório

Tabela 3 - Iniciadores para detecção do polimorfismo do SNP -137 da IL-18.

Iniciadores	Seqüência (5'- 3')	Amplicon	Alvo	Referência
IL-18 137.2 IL-18 Genérico	AGGAGGGCAAAATGCACTGG			
IL-18 137C IL-18 Específico	CCCCAACTTTTACGGAAGAAAAC	261 pb	IL-18 - 137 G/C	Giedraitis et al., 2001
IL-18 137G IL-18 Específico	CCCCAACTTTTACGGAAGAAAAG			
HGBA.S	CGGTATTTGGAGGTCAGCAC	456 / 436 pb	Controle	Nosso Laboratório
HGBA.A	CCCACCACCAAGACCTACTT		Controle	Nosso Laboratório

Tabela 4 – Condições de amplificação do SNP -607 da IL-18.

Temperatura	Tempo	Ciclos
94°C	3´	1X
94°C	20´´	
64°C	40´´	7X
72°C	40´´	
94°C	20´´	
57°C	40´´	25 X
72°C	40´´	
72°C	5´	1X
4°C	∞	

Tabela 5 – Condições de amplificação do SNP -137 da IL-18.

Temperatura	Tempo	Ciclos
94°C	3´	1X
94°C	20´´	5X
68°C	60´´	
94°C	20´´	
62°C	20´´	25 X
72°C	40´´	
72°C	5´	1X
4°C	∞	

3.8.2 Análise do produto amplificado

Os produtos das reações foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida não-desnaturante 10% corado por impregnação pela prata.

O gel não-desnaturante 10% foi preparado com os seguintes reagentes:

- 9,8 mL de água deionizada;
- 6,7 mL de acrilamida + bis-acrilamida (29:1);
- 1,4 mL de glicerol;
- 2,0 mL de tampão TBE 10x;
- 15 μL de TEMED;
- 300 μL de solução saturada de persulfato de potássio.

Após sua preparação, o gel foi imediatamente aplicado a um cassete previamente montado. Esse cassete era formado por duas placas de vidro colocadas sobre um suporte, separadas por espaçadores de teflon e presas com grampos de aço. Logo após a aplicação do gel entre as placas, colocou-se um pente de teflon na borda superior para a formação de sulcos onde, posteriormente, foram

aplicadas as amostras. O tempo de polimerização foi de aproximadamente 20 minutos.

Com o gel polimerizado, o pente foi retirado e, as placas que continham o gel, montadas em cuba de eletroforese vertical, com tampão TBE (o mesmo utilizado na preparação do gel, diluído 10 vezes) em ambos os pólos. Foram aplicados no gel 5 μL do produto amplificado acrescidos de 6 μL de corante (azul de bromofenol, xilenocianol, sacarose, EDTA, TBE, formamida a 75%), e a seguir, realizada a eletroforese.

As condições específicas para eletroforese de cada SNP da IL-18 estudado estão descritas na Tabela 6.

Tabela 6 - Condições específicas para eletroforese de cada SNP da IL-18.

SNP	Gel	Voltagem	Tempo
IL-18 –607	10% não-desnaturante	230V	1:00 h
IL-18 –137	10% não-desnaturante	230V	1:00 h

3.8.3 Coloração com nitrato de prata

Após a separação eletroforética, o gel foi corado por impregnação pela prata, de forma a viabilizar a visualização das bandas. Após ser retirado da placa, o gel foi colocado em 100 mL de solução fixadora (856 mL de álcool etílico, 35 mL de ácido acético, água deionizada q. s. p. 5000 mL) acrescida de 1 mL de nitrato de prata 20% (solução a 0,1% em água destilada) e mantido sob agitação em temperatura ambiente por 5 minutos. Depois desse tempo, a solução fixadora com prata foi descartada e o gel lavado com água. A água foi descartada e adicionou-se 100 mL de solução reveladora (90 g de NaOH, água deionizada q. s. p. 4000 mL) acrescida

de 1 mL de formaldeído. O gel foi colocado novamente sob agitação até a revelação das bandas, sendo posteriormente descartada a solução reveladora com formaldeído.

3.8.4 Registro dos resultados

Após sua leitura, o gel foi seco e arquivado. A secagem foi feita colocando-se o gel entre duas folhas de papel celofane embebidas em água, sobre uma placa de vidro, à temperatura ambiente por 1 dia. A imagem do gel pode ser observada na Figura 6.

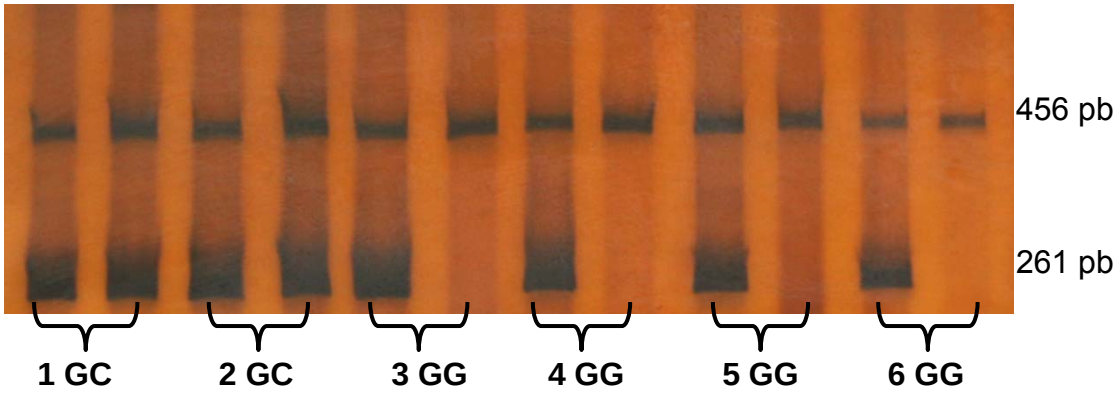

Figura 6. Gel de poliacrilamida 10% mostrando a mobilidade eletroforética do polimorfismo do SNP -137 da IL-18. A banda de 456 pb é referente ao controle interno da reação (HGBA.S/HGBA.A). As bandas de 261 pb representam o polimorfismo G/C do SNP -137 da IL-18.

3.9 Tipificação do polimorfismo do gene do IFN-γ (SNP +874)

3.9.1 Amplificação do DNA

As reações de amplificação do gene do IFN-γ (SNP +874) foram realizadas pela técnica de PCR-SSP utilizando-se 200 ng de DNA de cada amostra. Os reagentes para cada loco tipificado foram colocados em microtubos de 0,2 mL, atingindo o volume final de 10µL. Como controle interno, foram utilizados os iniciadores GH1 e GH2 (genes do hormônio do crescimento humano). As reações foram

realizadas em um termociclador Biocycler MJ96G. Os reagentes e as concentrações finais utilizadas estão listados na Tabela 7, os iniciadores específicos estão descritos na Tabela 8 e as condições de amplificação estão listadas na Tabela 9.

Tabela 7 - Reagentes e concentrações utilizadas para a amplificação do SNP +874 do INF-γ.

Reagente	Concentração
H_2Odd	
Tampão [a]	1x
$MgCl_2$ [b]	1,5 mM
DNTP [c]	0,3 mM
GH1	0,5 pmol
GH2	0,5 pmol
IFN-γ T/A	2,5 pmol
IFN-γ genérico	2,5 pmol
Taq polimerase	0,25 U
DNA	200 ng
Volume final	10 μL

[a] 20 mM Tris-Cl, pH 8.4, 50 mM KCl, [b] cloreto de magnésio, [c] dNTP 2'deoxinucleosídeo 5' trifosfato

Tabela 8 - Iniciadores para detecção do polimorfismo do SNP +874 do IFN- γ.

Iniciadores	Seqüência (5'- 3')	Amplicon	Alvo	Referência
IFN- γ 874 genérico	TCAACAAAGCTGATACTCCA	262 pb	IFN-γ +874 T/A	Pravica et al., 2000
IFN-γ 874 T IFN-γ Específico	TTCTTACAACACAAAATCAAATCT			
IFN-γ 874 A IFN-γ Específico	TTCTTACAACACAAAATCAAATCA			
GH1	GCCTTCCCAACCATTCCCTTA	426 pb	Controle	Nosso Laboratório
GH2	TCACGGATTTCTGTTGTGTTTC		Controle	Nosso Laboratório

Os produtos das reações foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida não-desnaturante 10% corado por impregnação pela prata. As condições específicas para eletroforese do SNP do INF-γ estudado estão descritas

na Tabela 10. A análise do produto amplificado, a técnica de coloração com nitrato de prata e o registro dos resultados se deram da mesma forma como já descrito para a IL-18.

Tabela 9 - Condições de amplificação do SNP +874 do IFN- γ.

Temperatura	Tempo	Ciclos
95°C	1´	1X
95°C	15´´	
62°C	50´´	10X
72°C	40´´	
95°C	20´´	
56°C	50´´	20X
72°C	50´´	
72°C	10´	1X
4°C	∞	

Tabela 10 - Condições específicas para eletroforese do SNP +874 do IFN-γ.

SNP	Gel	Voltagem	Tempo
IFN-γ +874	10% não-desnaturante	230V	1:00 h

3.10 Análise Estatística

3.10.1 Estimativa das freqüências alélicas e genotípicas

As freqüências alélicas e genotípicas foram estimadas por contagem direta, com uso do programa GENEPOP 3.4 (RAYMOND; ROUSSET, 1995a). Para comparação das distribuições das freqüências foi aplicado o teste exato de Fisher (SIEGEL, 1975) e o

Odds Ratio (OR), com auxílio do programa GraphPad InStat 3.01, de forma a detectar possíveis associações com alelos, genótipos ou haplótipos entre os três grupos avaliados (pacientes com SL, pacientes sem SL e controles saudáveis). Foram consideradas as associações com probabilidade menores que 5% ($p < 0,05$) e a magnitude da associação foi avaliada pelos cálculos da Fração Etiológica (FE) e da Fração Preventiva (FP).

3.10.2 Teste exato de diferenciação populacional

Esta análise testa a hipótese de distribuição aleatória de k (diferentes alelos) entre r (populações). O teste é análogo ao teste exato de Fisher em tabelas de contingência 2x2, estendido para tabelas de contingência r x k. Diversos potenciais estados desta tabela de contingência, mantendo os mesmos totais marginais, são explorados via Cadeia de Markov, sendo então estimada a probabilidade (p) de se observar uma tabela menos ou igualmente provável do que a tabela original, sob hipótese de panmixia. A fim de se assegurar que a Cadeia de Markov se iniciasse em posição aleatória, mil passos de desmemorização foram aplicados antes que os valores de p passassem a ser computados. Uma estimativa do erro padrão do valor de p é feita pela partição do número total de passos da Cadeia de Markov (30 mil) em B batches. O teste exato de diferenciação populacional foi realizado com o uso do programa GENEPOP 3.4 (RAYMOND; ROUSSET, 1995b).

3.10.3 Aderências ao equilíbrio de Hardy-Weinberg

Entende-se por equilíbrio de Hardy-Weinberg que para qualquer loco gênico, as freqüências relativas dos genótipos, em populações de cruzamento ao acaso (panmíticas) permaneçam constantes, de geração a geração, a menos que certos fatores

perturbem este equilíbrio. Esses fatores são os chamados fatores evolutivos: mutação, seleção, deriva genética e migração (ou fluxo gênico).

Assim, para que uma população esteja em equilíbrio de Hardy-Weinberg deve atender às seguintes premissas: 1) Estar livre de fatores evolutivos; 2) População suficientemente grande para que os cruzamentos se dêem ao acaso (panmítica); 3) Proporção sexual em torno de 1:1 – número de indivíduos masculinos igual ao de femininos; 4) População mendeliana – população formada por um grupo de organismos da mesma espécie que se reproduzem sexuadamente e residem dentro de limites geográficos definidos, permitindo o intercruzamento.

Embora o modelo de Hardy-Weinberg pareça não se aplicar às populações humanas, uma vez que elas não atendem a todas as premissas mencionadas, ele é importante porque possibilita: a) Descrever a composição populacional em termos de freqüências gênicas; b) Conhecer as freqüências dos diferentes genótipos; c) Avaliar os possíveis efeitos dos fatores evolutivos na constituição genética de uma população; d) Identificar erros laboratoriais (BORGES-OSÓRIO; ROBINSON, 2001).

A aderência das freqüências genotípicas observadas às proporções teóricas de Hardy-Weinberg foi verificada pelo teste exato de Guo e Thompson (1992) utilizando-se o programa GENEPOP 3.4 (RAYMOND; ROUSSET, 1995a).

3.10.4 Desequilíbrio de ligação entre os locos e inferência de haplótipos da IL-18

A presença de uma associação significativa entre os SNPs da IL-18 foi verificada por meio do teste de desequilíbrio de ligação (EXCOFFIER; SLATKIN, 1998), utilizando-se o programa ARLEQUIN 3.1 (EXCOFFIER; LAVAL; SCHNEIDER, 2005). Dada uma associação positiva, mas com fase gamética desconhecida, o algoritmo EM (EXCOFFIER; SLATKIN, 1995) implementado pelo

programa HelixTree® (HelixTree 6.0.1 – Golden Helix Inc, EUA) e o método PHASE, implementado pelo programa PHASE v2 (STEPHENS; SMITH; DONNELLY, 2001), foram utilizados para inferir os haplótipos da IL-18. Os programas HelixTree® e PHASE inferiram haplótipos com uma probabilidade média de 0,9742 e 0,9725, respectivamente, e todas as amostras tiveram os mesmos haplótipos inferidos por ambos os métodos.

Resultados

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização das amostras

4.1.1 Pacientes com a síndrome da lipodistrofia

Os pacientes selecionados para o estudo, caracterizados como portadores da síndrome da lipodistrofia, apresentaram idades que variaram de 29 a 65 anos (média = 42,84 ± 7,63 anos); 61 indivíduos (69,31%) eram do sexo masculino e 27 (30,68%) do sexo feminino.

O tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV variou de 3 a 16 anos (média = 8,46 ± 3,28 anos) e o tempo de tratamento com anti-retrovirais de 1,5 a 15 anos (média = 6,77 ± 3,02 anos). Dentre os pacientes, 36 apresentaram carga viral detectável (40,90%), e os valores estavam entre 56 e 324144 cópias/mL (média = 43705,97 cópias/mL).

Em relação à presença de alterações morfológicas e metabólicas neste grupo, 8 pacientes (9,09%) apresentaram somente alterações morfológicas, 28 (31,81%) apresentaram somente alterações metabólicas, e 52 (59,09%) apresentaram alterações morfológicas e metabólicas. Dos pacientes com alterações morfológicas, 23 (38,33%) apresentaram somente a lipoatrofia, 8 (13,33%) somente a lipohipertrofia e 29 (48,33%) apresentaram a forma mista, com os dois tipos de alterações morfológicas. Outras características demográficas, dados laboratoriais e os parâmetros metabólicos estão listados na Tabela 11.

Dentre os anti-retrovirais utilizados, por ocasião da inclusão do paciente no estudo, foram identificados 17 tipos diferentes de drogas pertencentes às classes dos ITRN, ITRNt, ITRNN, IP e IF. Com relação à diversidade dos tipos de anti-

retrovirais utilizados, o esquema terapêutico dos pacientes incluía todos os tipos de drogas referentes às classes de ITRN, ITRNt, ITRNN e IF. Relativo à classe dos IP, foram utilizados 07 dos 09 medicamentos disponíveis, visto que o Fosamprenavir e o Darunavir ainda não se encontravam disponíveis para o uso. Os esquemas terapêuticos com os anti-retrovirais utilizados pelos pacientes são mostrados na Tabela 12.

4.1.2 Pacientes sem a síndrome da lipodistrofia

Os pacientes selecionados para o estudo, caracterizados como não portadores da síndrome da lipodistrofia, apresentaram idades que variaram de 18 a 65 anos (média = 39,74 ± 8,03 anos); 50 indivíduos (63,29%) eram do sexo masculino e 29 (36,70%) do sexo feminino.

O tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV variou de 2 a 20 anos (média = 7,37 ± 4,05 anos) e o tempo de tratamento com anti-retrovirais de 1,5 a 15 anos (média = 5,46 ± 2,74 anos). Dentre os pacientes, 32 apresentaram carga viral detectável (40,50%), e os valores estavam entre 59 e 175389 cópias/mL (média = 29412,9 cópias/mL). Nenhum dos pacientes apresentou qualquer tipo de alteração morfológica e ou metabólica. Outras características demográficas, dados laboratoriais e os parâmetros metabólicos estão listados na Tabela 11.

Entre os anti-retrovirais utilizados por ocasião da inclusão do paciente no estudo, foram identificados 13 tipos diferentes de drogas, sendo usadas todas as pertencentes às classes dos ITRNt e ITRNN. Foram utilizados 05 dos 06 medicamentos disponíveis na classe dos ITRN e 05 dos 07 medicamentos disponíveis na classe dos IP. Nenhum dos pacientes utilizou IF. Os esquemas

terapêuticos com os anti-retrovirais utilizados pelos pacientes são mostrados na Tabela 12.

Tabela 11 - Características demográficas, dados laboratoriais e parâmetros metabólicos de pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia.

Variáveis	Pacientes com SL n = 88	Pacientes sem SL n = 79
Dados demográficos		
Cor da pele (%)		
Branco	72.72	75.94
Mulato	11.36	13.92
Negro	15.90	10.12
Dados laboratoriais		
Nº de células T CD4+ (cel/mL)	526.33 ± 313.90	426.86 ± 276.12
Carga viral indetectável (<50 cópias/mL) (%)	59.09	59.49
Parâmetros metabólicos		
Triglicérides (mg/dL)	302.47 ± 245.94	100.69 ± 34.77
Colesterol total (mg/dL)	207.02 ± 52.65	160.05 ± 25.63
HDL- colesterol (mg/dL)	39.10 ± 13.02	41.21 ± 11.01
LDL-colesterol (mg/dL)	118.19 ± 47.31	96.54 ± 22.52

Os dados estão apresentados como média ± DP, exceto quando apresentados como porcentagem.

Tabela 12 - Esquemas terapêuticos com os anti-retrovirais utilizados pelos pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia.

Esquema	Pacientes com SL n = 88	Pacientes sem SL n = 79	p*
ITRN	5	0	0,0606
ITRN + ITRNt	0	1	0,4731
ITRN + ITRNt + ITRNN	4	1	0,3711
ITRN + ITRNt + IP	10	9	1,0000
ITRN + ITRNt + ITRNN+ IP	7	2	0,1736
ITRN + ITRNt + IP + IF	2	0	0,4984
ITRN + ITRNN	33	49	0,0019
ITRN + IP	16	13	0,8394
ITRN + ITRNN + IP	11	4	0,1099
Algum IP no esquema	46	28	0,0305

ITRN, Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos; ITRNt, Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleotídeos; ITRNN, Inibidores da Transcriptase Reversa não-Análogos de Nucleosídeos; IP, Inibidores de Protease; IF, Inibidores de Fusão. *Teste exato de Fisher.

4.2 Tipificação dos polimorfismos da região promotora do gene da IL-18

A tipificação dos polimorfismos da região promotora (SNPs -607 C/A e -137 C/G) da IL-18 foi avaliada nos três grupos (pacientes com ou sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis). Os genótipos de todos os grupos avaliados aderiram às proporções teóricas do equilíbrio de Hardy-Weinberg.

4.2.1 IL-18 -607 C/A

O alelo -607C apresentou-se mais freqüente em relação ao alelo -607A nos três grupos analisados (Gráfico 1). A distribuição da freqüência alélica da IL-18 -607 está demonstrada na Tabela 13.

Comparações das freqüências encontradas nos grupos estudados mostraram que para a IL-18 -607:

1) O alelo -607A apresentou-se significativamente aumentado entre pacientes com a SL quando comparados aos pacientes sem a SL (p=0,0004, OR=2,348, IC95%=1,473 a 3,742, FE=0,2508);

2) O alelo -607C apresentou-se significativamente aumentado entre pacientes sem a SL quando comparados aos pacientes com a SL (p=0,0004, OR=0,426, IC95%=0,267 a 0,679, FP=0,4265);

3) O genótipo -607AA apresentou-se significativamente aumentado entre os pacientes com a SL quando comparados aos pacientes sem a SL (p=0,0071, OR=4,075, IC95%=1,443 a 11,513, FE=0,1584);

4) O genótipo -607CC apresentou-se significativamente aumentado entre os pacientes sem a SL quando comparados aos pacientes com a SL (p=0,0048, OR=0,391, IC95%=0,209 a 0,733, FP=0,3275);

5) O genótipo -607AC não apresentou diferenças significativas entre os pacientes sem a SL quando comparados aos pacientes com a SL (p=0,3497, OR=1,361, IC95%=0,733 a 2,527).

Comparações das freqüências dos alelos e genótipos do SNP-607 da IL-18 entre os grupos de pacientes (com ou sem a SL) com o grupo de controles saudáveis não mostraram diferenças significativas.

Tabela 13 - Distribuição das freqüências dos alelos da IL-18 -607 entre os grupos de pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis.

Alelos	IL 18 – 607		
	Pacientes com SL (n = 88) %	Pacientes sem SL (n = 79) %	Controles saudáveis (n = 133) %
C	55,68	74,68	70,68
A	44,32	25,32	29,32

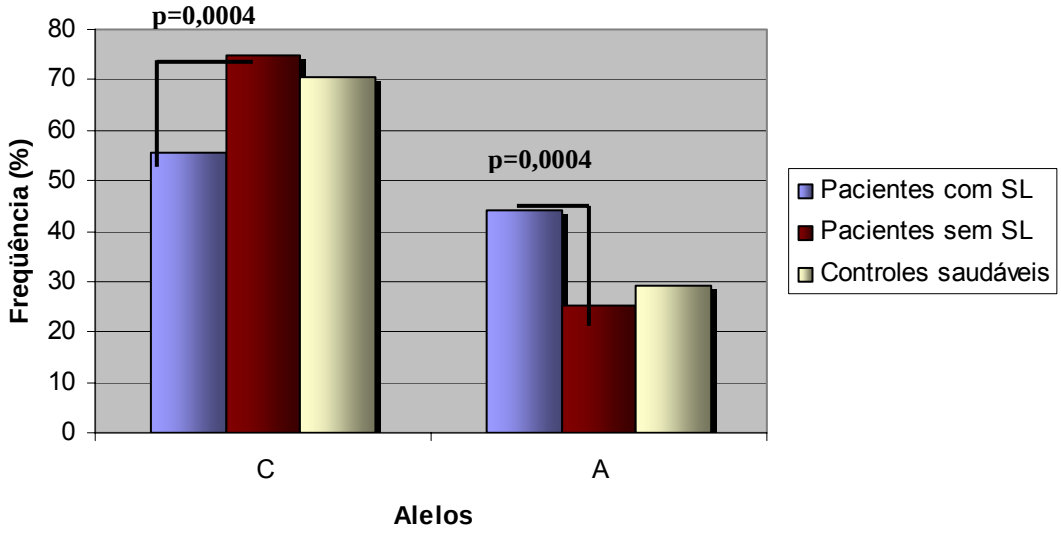

Gráfico 1. Distribuição da freqüência alélica da IL-18 -607 em pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis.

4.2.2 IL-18 -137 C/G

O alelo -137G apresentou-se mais freqüente em relação ao alelo -137C nos três grupos analisados (Gráfico 2). Entretanto, quando a freqüência alélica foi comparada entre os diferentes grupos estudados, nenhuma diferença significativa foi observada. A distribuição da freqüência alélica da IL-18 -137 está demonstrada na Tabela 14.

Tabela 14 - Distribuição das freqüências dos alelos da IL-18 -137 entre os grupos de pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis.

Alelos	IL 18 -137		
	Pacientes com SL (n = 88) %	Pacientes sem SL (n = 79) %	Controles saudáveis (n = 133) %
C	30,11	23,42	29,32
G	69,89	76,58	70,68

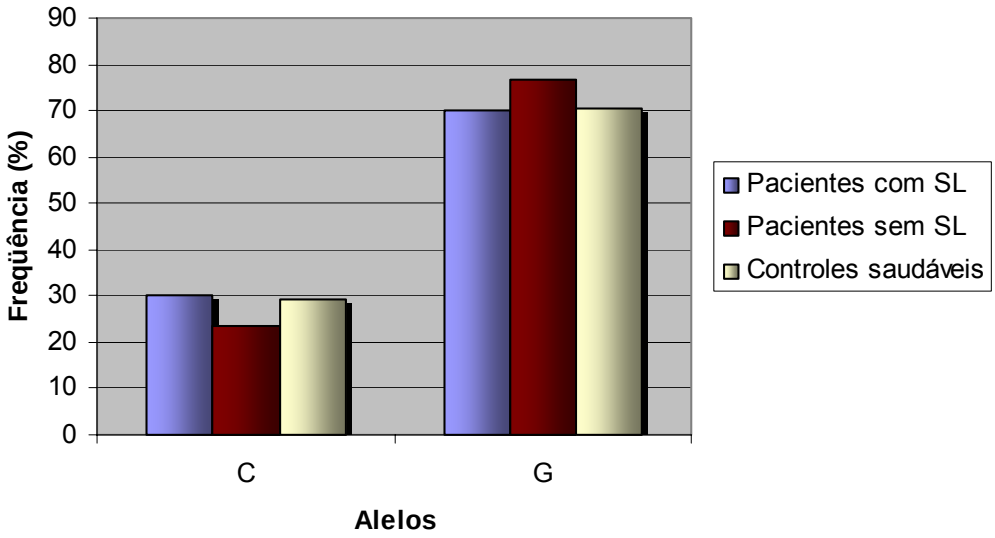

Gráfico 2. Distribuição da freqüência alélica da IL-18 -137 em pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis.

4.2.3 Inferência de haplótipos da IL-18

O teste exato de desequilíbrio de ligação revelou que os SNPs -607 e -137 da IL-18 estavam fortemente unidos em todos os grupos avaliados, permitindo a inferência de haplótipos para o polimorfismo da IL-18. O teste exato de diferenciação populacional baseado na freqüência dos haplótipos revelou uma diferença entre os grupos de pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia (p=0,0008 ± 0,0005). O haplótipo -137G/-607C apresentou maior freqüência nos três grupos analisados (Gráfico 3). As freqüências de cada haplótipo estão representadas na Tabela 15 e a comparação dos haplótipos da IL-18 entre os pacientes com e sem a SL está representada na Tabela 16.

Tabela 15 - Freqüências dos haplótipos da IL-18 entre os grupos de pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis.

Haplótipos	Pacientes com SL (n = 88) %	Pacientes sem SL (n = 79) %	Controles saudáveis (n = 133) %
-137G/-607A	18,75	10,76	12,78
-137G/-607C	51,14	65,82	57,89
-137C/-607C	04,55	08,86	12,78
-137C/-607A	25,57	14,56	16,54

Tabela 16 - Comparação dos haplótipos da IL-18 entre os grupos de pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia.

Haplótipos	Pacientes com SL x Pacientes sem SL (p-value)	OR (IC 95%)
-137G/-607A	0,0463	1,9140 (1,0200 – 3,593)
-137G/-607C	0,0077	0,5434 (0,3492 – 0,8465)
-137C/-607C	0,1263	0,4898 (0,1997 – 1,201)
-137C/-607A	0,0143	2,0160 (1,155 – 3,519)

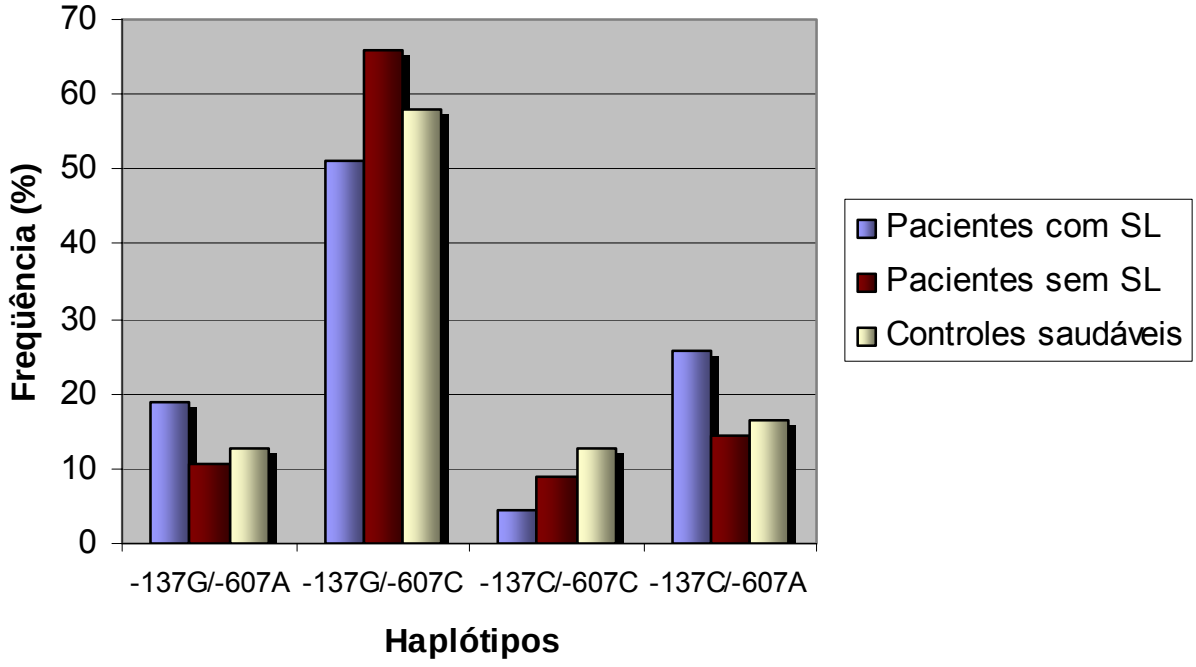

Gráfico 3. Distribuição da freqüência haplotípica da IL-18 em pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis.

4.3 Tipificação do polimorfismo do gene do IFN-γ (SNP +874)

A tipificação do polimorfismo do gene do IFN-γ foi avaliada para determinação do SNP +874 T/A, nos três grupos (pacientes com ou sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis). Os genótipos de todos os grupos avaliados aderiram às proporções teóricas do equilíbrio de Hardy-Weinberg.

O alelo +874A apresentou-se mais freqüente em relação ao alelo +874T nos três grupos analisados (Gráfico 4). Entretanto, quando a freqüência alélica foi comparada entre os diferentes grupos estudados, nenhuma diferença significativa foi observada. A distribuição das freqüências alélicas do IFN-γ +874 está demonstrada na Tabela 17.

Tabela 17 - Distribuição das freqüências dos alelos do IFN-γ +874 entre os grupos de pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis.

Alelos	IFN-γ +874		
	Pacientes com SL (n = 88) %	Pacientes sem SL (n = 79) %	Controles saudáveis (n = 133) %
T	35,00	38,00	39,85
A	65,00	62,00	60,15

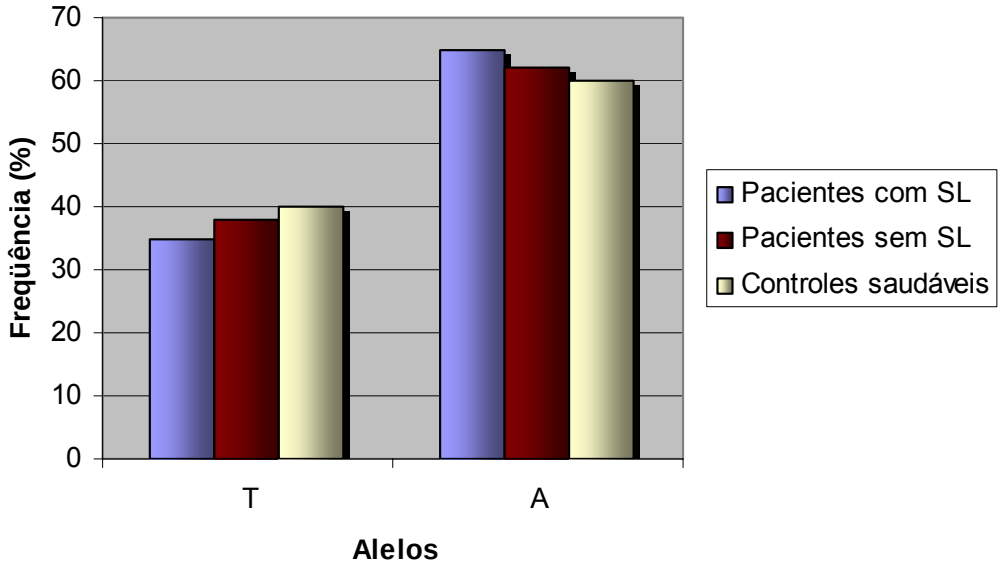

Gráfico 4. Distribuição da freqüência alélica do IFN-γ +874 em pacientes com e sem a síndrome da lipodistrofia e controles saudáveis.

Discussão

5 DISCUSSÃO

A síndrome da lipodistrofia tem sido descrita como um efeito colateral que acomete uma porcentagem considerável (até 83%) de portadores da infecção pelo HIV sob terapia anti-retroviral (CARR et al., 1999).

Várias repercussões deletérias são atribuídas a essa síndrome. Além dos prejuízos clínicos, como a susceptibilidade aumentada para o desenvolvimento de diabetes mellitus e doenças cardiovasculares (BARBARO, 2005; CARR et al., 1999), nota-se grande impacto no bem-estar psicossocial, incorrendo em diminuição da qualidade de vida e, conseqüentemente, da aderência à terapêutica anti-retroviral (DURAN et al., 2001; SANCHES, 2008).

O diagnóstico da SL nem sempre é de fácil realização e vem sendo feito com base, principalmente, na observação das alterações morfológicas reportadas pelos pacientes ou observadas pelo investigador, ou pela combinação dos dois. Diante disso, a falta de critérios objetivos para a identificação de alterações morfológicas é ainda um fator limitante.

Visto que as alterações na forma corporal podem ser interpretadas de forma subjetiva tanto pelo paciente quanto pelo examinador, Baril et al. (2005) relatam que parâmetros objetivos como antropométricos, bioquímicos (dosagem de colesterol e triglicérides) e radiológicos (ultrassonografia, tomografia computadorizada e radioabsorciometria de feixes duplos - DEXA) têm sido avaliados com vista à sua aplicação no diagnóstico da síndrome da lipodistrofia.

Entretanto, como a maioria dos estudos ainda utiliza o relato de pacientes e clínicos para o diagnóstico da SL; no presente estudo, a SL também foi identificada

com base na concordância entre os pacientes, clínicos e a pesquisadora sobre as alterações na forma corporal, aliada aos resultados de exames de lipidograma.

Uma vez que a SL pode se manifestar de diferentes maneiras nos pacientes: 1) com alterações morfológicas, ou seja, pela a perda de tecido adiposo periférico (lipoatrofia) ou aumento da adiposidade central e acúmulo de gordura na região dorsocervical (lipohipertrofia), ou ainda na forma mista - com lipoatrofia e lipohipertrofia simultâneas; 2) com alterações metabólicas, principalmente relacionadas à dislipidemia; nesse estudo nós agrupamos os pacientes com SL, apresentando estas alterações no mesmo grupo.

Os mecanismos associados com o desenvolvimento da SL ainda não estão muito bem esclarecidos apesar de existirem várias hipóteses que tentam explicar sua patogênese. Com respeito à ação dos anti-retrovirais, tem sido descrito que os IP afetam a adipogênese pela inibição de fatores de transcrição como o *sterol regulatory element-binding protein 1c* (SREBP1c) e o *peroxisome-proliferator-activated receptor* γ(PPARγ), resultando em disfunção e diminuição da proliferação de adipócitos periféricos (BASTARD et al., 2002). Os ITRN atuam inibindo a enzima DNA mitocondrial polimerase γ, envolvida na replicação do DNA mitocondrial (DNAmt) (LIM; COPELAND, 2001). Como a mitocôndria é encontrada em quantidade abundante no tecido adiposo subcutâneo, é proposto que esse mecanismo leva a depleção de DNAmt na gordura subcutânea, resultando em disfunção celular e aumento de apoptose (BRINKMAN et al., 1999; NOLAN et al., 2003b; PACE et al., 2003).

Com relação ao regime terapêutico utilizados pelos pacientes, nossos dados confirmam a associação dos IP com a presença da SL (CARR et al., 1998b). Quando analisada a presença de algum IP no esquema terapêutico dos pacientes,

essa classe de anti-retrovirais mostrou-se mais prevalente entre os portadores da SL (p=0,0305). Embora o uso de ITRN também venha sendo associado com o desenvolvimento da SL (BRINKMAN et al., 1999; MADGE et al., 1999), nossos resultados mostraram que o esquema terapêutico formado por ITRN + ITRNN estava fortemente associado com a ausência da SL (p=0,0019).

Além da associação com o desenvolvimento da SL, os IP e ITRN podem contribuir com o estado inflamatório, presente nos pacientes com SL (LAGATHU et al., 2004), pela alteração dos níveis de citocinas no tecido adiposo, no plasma e no soro (CHRISTEFF et al., 2002; JAN et al., 2004; JOHNSON et al., 2004; LINDEGAARD et al., 2004a; LINDEGAARD et al., 2004b).

Uma dessas citocinas, e talvez a mais estudada na SL - o TNF - pode levar à redução no tecido adiposo subcutâneo (GASIC; TIAN; GREEN, 1999), sugerindo o seu envolvimento na SL. Estudos desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa revelaram que as comparações dos polimorfismos da região promotora do TNF sugerem que a presença do alelo TNF-308G, assim como seu homozigoto TNF-308GG, podem conferir susceptibilidade para o desenvolvimento da SL (SILVA, 2008). Visto que a participação da IL-18 e do IFN-γ na SL pode estar intimamente ligada à presença do TNF, uma vez que uma das funções desta citocina é a estimulação da produção da IL-18 (PUREN et al., 1998); e que a IL-18, por sua vez, atua na indução da produção de IFN-γ (BARBULESCU et al., 1998), no presente estudo, nós ampliamos a investigação da associação destas citocinas no desenvolvimento da SL.

Existem poucos estudos que avaliaram os níveis de IL-18 e IFN-γ em pacientes com SL, entretanto, essas citocinas vêm sendo associadas com várias alterações em indivíduos não portadores do HIV, cujos mecanismos patogênicos são

estreitamente semelhantes aos da SL, incluindo a resistência à insulina, diabetes e doenças cardiovasculares (BRUUN et al., 2007; CHEN et al., 2007; GUPTA et al., 1997; ROCHA et al., 2008; THORAND et al., 2005).

Diante disso, estudos de polimorfismos genéticos de citocinas podem corroborar no esclarecimento e compreensão de mecanismos patogênicos de doenças que apresentam a participação de citocinas, visto que vários sítios polimórficos podem influenciar seus níveis de produção. Apesar de alguns estudos de polimorfismos genéticos já terem sido realizados na SL, esse é o primeiro estudo que avaliou os polimorfismos da IL-18 e do IFN-γ em pacientes portadores do HIV com a SL.

SNPs localizados nas posições -607 (C/A) e -137 (C/G) na região promotora do gene da IL-18 são conhecidos por influenciarem os níveis de produção da citocina. Indivíduos homozigotos para os alelos -607C e -137G expressam altos níveis de IL-18 enquanto que, na presença dos alelos -607A e -137C, a atividade da região promotora é diminuída (GIEDRAITIS et al., 2001). Um estudo prévio que avaliou a associação do polimorfismo da região promotora da IL-18 com os respectivos níveis séricos da citocina, realizado com pacientes portadores do HIV, não encontrou nenhuma associação significativa entre os polimorfismos das posições -607 e -137 e as concentrações séricas nesses pacientes (SONG et al., 2006).

Nossos resultados mostraram que não existiram diferenças nas comparações desses sítios polimórficos entre os dois grupos de pacientes (com e sem a SL) e os controles saudáveis. No entanto, as freqüências do alelo -607C e do genótipo -607CC estavam significativamente aumentadas em pacientes sem a SL quando comparados aos pacientes com a SL. Esses resultados são inesperados, uma vez

que esse sítio polimórfico está associado com a alta produção de IL-18 (GIEDRAITIS et al., 2001), e que altos níveis de IL-18 foram descritos no tecido adiposo e no plasma de pacientes com SL (LINDEGAARD et al., 2004a; LINDEGAARD et al., 2004b).

Referente às associações dos haplótipos da IL-18, todos os haplótipos que continham o alelo -607A estavam associados com a susceptibilidade para a SL e o haplótipo -137G/-607C estava fortemente associado com proteção contra a SL. É interessante relatar que nosso estudo também pôde revelar a diversidade de distribuição dos haplótipos da IL-18 entre grupos étnicos diferentes e até dentro do mesmo país. Nossos resultados revelaram a presença do haplótipo -137C/-607C nos três grupos estudados. Estudos anteriores, em diversas populações, não detectaram a presença desse haplótipo: 1) na população chinesa (LIU et al, 2007); 2) na japonesa (IDE et al., 2004) e 3) na própria população brasileira, realizado na cidade de Recife (SEGAT et al., 2006). Por outro lado, Gracie et al., (2005) também mostrou a presença deste haplótipo em outras populações (alemã e escocesa).

Com relação ao polimorfismo do IFN-γ, um único SNP, localizado na posição +874, desempenha um papel chave nos níveis de produção da citocina. Esse polimorfismo gera três possíveis genótipos – A/A, T/A e T/T, que possibilita três diferentes fenótipos. A baixa produção de IFN-γ está relacionada com o genótipo A/A, a média produção com T/A e a alta com T/T (PRAVICA et al., 2000). Nenhuma diferença significativa na distribuição alélica e genotípica do IFN-γ +874 foi observada entre nossos grupos, o que sugere que não há variação nos níveis de produção da citocina. Esse resultado concorda com o estudo de Norbiato et al. (2000) que não identificou variação nos níveis de IFN-γ entre pacientes com e sem a SL. Por outro lado, um estudo recente mostrou que os níveis séricos do IFN-γ

apresentaram-se menores nos pacientes com a SL em relação ao grupo de pacientes sem a SL (PONTES CARDOSO, 2006).

Devido à complexidade dos mecanismos imunogenéticos na determinação da susceptibilidade ou proteção ao desencadeamento de doenças; a escassez de estudos de polimorfismos relacionados à SL; e ao fato de que os polimorfismos genéticos podem variar entre diferentes grupos étnicos, estudos futuros são necessários para esclarecer a associação dos polimorfismos da IL-18 e do IFN-γ com a SL em diversas populações étnicas.

Conclusões

6 CONCLUSÕES

De acordo com os achados desse estudo, podemos concluir que:

1. Os medicamentos da classe dos IP parecem estar relacionados com o desenvolvimento da SL.
2. O esquema terapêutico composto por ITRN + ITRNN parece proteger os pacientes do desenvolvimento da SL.
3. O alelo -607C, o genótipo -607CC e o haplótipo -137G/-607C estavam associados com proteção ao desenvolvimento da SL.
4. O alelo -607A, o genótipo -607AA e os haplótipos -137G/-607A e -137C/-607A estavam associados com susceptibilidade ao desenvolvimento da SL.
5. Devido esse ser o primeiro estudo que associou o polimorfismo da IL-18 e do IFN-γ na SL, e porque os polimorfismos genéticos podem variar entre diferentes grupos étnicos, estudos futuros serão necessários para esclarecer a associação dos polimorfismos da IL-18 e do IFN-γ com o risco para a SL em diversas populações étnicas.

Considerações finais

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A alta prevalência e todos os efeitos deletérios da Síndrome da Lipodistrofia entre os pacientes portadores do HIV sob terapia anti-retroviral, merecem atenção especial da enfermagem.

Um dos papéis principais, e talvez o mais difícil, para a equipe de enfermagem que assiste os pacientes com a SL, é o de reforçar o incentivo sobre a importância e necessidade da adequada aderência terapêutica aos anti-retrovirais para o sucesso do tratamento, principalmente entre os pacientes com alterações na forma corporal. Difícil porque frente a essas alterações que “distorcem” a imagem do corpo, que causam receio da revelação da soropositividade para o HIV pela aparência adquirida, o rebaixamento da auto-estima e da qualidade de vida, dentre outros abalos emocionais, a intenção de abandono da terapia é freqüente nesses pacientes. Além disso, atenção e preocupação da equipe de enfermagem também são exigidas com relação aos distúrbios metabólicos, que contribuem para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, bem como do diabetes mellitus.

Diante dessas alterações morfológicas e metabólicas causadas pela síndrome, torna-se necessária uma assistência de enfermagem sistematizada que abranja as necessidades fisiológicas e psicológicas desses pacientes e que atente para um cuidado individualizado. O melhor entendimento dos mecanismos envolvidos no desencadeamento desta síndrome pode fortalecer, instrumentalizar e subsidiar o profissional de enfermagem, capacitando-o para uma abordagem especializada aos indivíduos portadores do HIV.

Referências bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Imunologia cellular e molecular.** Tradução Claudia Reali. 5. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

ABOULAFIA, D. M.; BUNDOW, D. Buffalo Hump in a patient with the Acquired Immunodeficiency Syndrome. **N. Engl. J. Med.**, v. 339, p. 1297, 1998.

ASENSI, V. et al. IL-1beta (+3954C/T) polymorphism could protect human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients on highly active antiretroviral treatment (HAART) against lipodystrophic syndrome. **Genet. Med.**, v. 10, n. 3, p. 215-223, 2008.

BARBARO, G. Reviewing the cardiovascular complications of HIV infection after the introduction of highly active antiretroviral therapy. **Curr. Drug. Targets Cardiovasc. Haematol. Disord.**, v. 5, n. 4, p. 337-343, 2005.

BARBULESCU, K. et al. IL-12 and IL-18 differentially regulate the transcriptional activity of the human IFN-gamma promoter in primary CD4+ T lymphocytes. **J. Immunol.**, v. 160, n. 8, p. 3642-3647, 1998.

BARIL, J. G. et al. HIV-associated lipodystrophy syndrome: A review of clinical aspects. **Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.**, v. 16, n. 4, p. 233-243, 2005.

BASTARD, J. P. et al. Association between altered expression of adipogenic factor SREBP1 in lipoatrophic adipose tissue from HIV-1-infected patients and abnormal adipocyte differentiation and insulin resistance. **Lancet**, v. 359, p. 1026-1031, 2002.

BOCKHORST, J. L. et al. Evidence of human immunodeficiency virus-associated lipodystrophy syndrome in children treated with protease inhibitors. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 22, n. 5, p. 463-465, 2003.

BORGES-OSÓRIO, M. R.; ROBINSON, W. M. **Genética Humana**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2001.

* De acordo com:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BRASIL. Ministério da saúde. Manual de Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis. Coordenação Nacional de DST/Aids. 3ª Edição, 1999. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/assistencia/manualcontroledst.pdf>. Acesso em: 02 nov. 2008.

BRASIL. Ministério da saúde. Programa Nacional de DST e aids, 2008a. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMIS13F4BF21PTBRIE.htm>. Acesso em: 04 nov. 2008.

BRASIL. Ministério da saúde. Programa Nacional de DST e aids. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV 2007/2008, 2008b. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMISFB7D5720PTBRIE.htm>. Acesso em: 04 nov. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de DST e aids. UNGASS – Resposta Brasileira 2005-2007. Relatório de Progresso do País, 2008c. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/relatorio_ungass_2008_pt.pdf>. Acesso em: 04 nov. 2008.

BRINKMAN, K. et al. Mitochondrial toxicity induced by nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors is a key factor in the pathogenesis of antiretroviral-therapy-related lipodystrophy. **Lancet**, v. 354, p. 1112-1115, 1999.

BROWN, T. T. et al. Antiretroviral therapy and the prevalence and incidence of diabetes mellitus in the multicenter AIDS cohort study. **Arch. Intern. Med.**, v. 165, p. 1179–1184, 2005.

BRUUN, J. M. et al. Interleukin-18 in plasma and adipose tissue: effects of obesity, insulin resistance, and weight loss. **Eur. J. Endocrinol.**, v. 157, n. 4, p. 465-471, 2007.

CAPILUPPI , B. et al. Metabolic disorders in a cohort of patients treated with highly aggressive antiretroviral therapies during primary HIV-1 infection. **AIDS**, v. 14, n. 12, p. 1861-1862, 2000.

CARR, A. et al. Abnormal fat distribution and use of protease inhibitors. **Lancet**, v. 351, n. 9117, p. 1736, 1998a.

CARR, A. et al. A syndrome of peripheral lipodystrophy hyperlipidemia and insulin resistence in patients receiving HIV protease inhibitors. **AIDS**, v. 12, n. 7, p. 51-58, 1998b.

CARR, A., COOPER, D. A. Images in clinical medicine. Lipodystrophy associated with an HIV-protease inhibitor. **N. Engl. J. Med**., v. 339, n. 18, p. 1296, 1998.

CARR, A. et al. Diagnosis, prediction and natural course of HIV protease inhibitor-associated lipodystrophy, hyperlipidaemia and diabetes mellitus: a cohort study. **Lancet**, v. 353, p. 2093–2099, 1999.

CHEN, M. C. et al. Interleukin-18: a strong predictor of the extent of coronary artery disease in patients with unstable angina. **Heart Vessels.**, v. 22, n. 6, p. 371-375, 2007.

CHRISTEFF, N. et al. Increased serum interferon alpha in HIV-1 associated lipodystrophy syndrome. **Eur. J. Clin. Invest.**, v. 32, n. 1, p. 43-50, 2002.

CIANFLONE, K. et al. Protease inhibitor effects on triglyceride synthesis and adipokine secretion in human omental and subcutaneous adipose tissue. **Antivir. Ther.**, v. 11, n. 6, p. 681-691, 2006.

CLAVEL, F. et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. **Science**, v. 233, n. 4761, p. 343-346, 1986.

CUNICO, W.; GOMES, C. R.; VELLASCO JR, W. T. HIV – recentes avanços na pesquisa de fármacos. **Quim. Nova**, v. XY, p. 1-7, 2008.

DIEHL, L. A. et al. Prevalence of HIV-associated lipodystrophy in Brazilian outpatients: relation with metabolic syndrome and cardiovascular risk factors. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, v. 52, n. 4, p. 658-667, 2008.

DURAN, S. et al. Failure to maintain long-term adherence to highly active antiretroviral therapy: the role of lipodystrophy. **AIDS**, v. 15, n. 18, p. 2441-2444, 2001.

EMBRETSON, J. et al. Massive covert infection of helper T lymphocytes and macrophages by HIV during the incubation period of AIDS. **Nature**, v. 362, p. 359-362, 1993.

EXCOFFIER, L.; SLATKIN, M. Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population. **Mol. Biol. Evol.**, v. 12, p. 921-927, 1995.

EXCOFFIER, L.; SLATKIN, M. Incorporating genotypes of relatives into a test of linkage disequilibrium. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 62, p. 171-180, 1998.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. **Evol. Bioinform. Online**, v. 1, p. 47-50, 2005.

FENTON, M. J. et al. Induction of gamma interferon production in human alveolar macrophages by *Mycobacterium Tuberculosis*. **Infect. Immun.**, v. 65, n. 12, p. 5149-5156, 1997.

FINZI, D. et al. Latent infection of CD4+ T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. **Nat. Med.**, n. 5, p. 512-517, 1999.

FULLER, J. A 39-year-old man with HIV-associated lipodystrophy. **JAMA**, v. 300, n. 9, p. 1056-1066, 2008.

GALLI, M. et al. Correlates of risk of adipose tissue alterations and their modifications over time in HIV-1-infected women treated with antiretroviral therapy. **Antivir. Ther.**, v. 8, n. 4, p. 347-354, 2003.

GALLO, R. C.; MONTAGNIER, L. The chronology of AIDS research. **Nature**, v. 326, n. 6112, p. 435-436, 1987.

GASIC, S.; TIAN, B.; GREEN, A. Tumor necrosis factor alpha stimulates lipolysis in adipocytes by decreasing Gi protein concentrations. **J. Biol. Chem.**, v. 274, n. 10, p. 6770–6775, 1999.

GIEDRAITIS, V. et al. Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. **J. Neuroimmunol.**, v. 112, n. 1-2, p. 146-152, 2001.

GRACIE, J. A. et al. Disease association of two distinct interleukin-18 promoter polymorphisms in Caucasian rheumatoid arthritis patients. **Genes Immun.**, v. 6, n. 3, 211–216, 2005.

GUARALDI, G. et al. Morphologic alterations in HIV-infected people with lipodystrophy are associated with good adherence to HAART. **HIV Clin. Trials**, v. 4, n. 2, p. 99-106, 2003.

GUO, S. W.; THOMPSON, E. A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. **Biometrics**, v. 48, n. 2, p. 361-372, 1992.

GUPTA, S. et al. IFN-gamma potentiates atherosclerosis in ApoE knock-out mice. **J. Clin. Invest.**, v. 99, n. 11, p. 2752-2761, 1997.

HADIGAN, C. et al. Metabolic abnormalities and cardiovascular disease risk factors in adults with human immunodeficiency virus infection and lipodystrophy. **Clin. Infect. Dis.**, v. 32, n. 1, p. 130–139, 2001.

HASELTINE, W. A. Molecular biology of the human immunodeficiency virus type 1. **FASEB J.**, v. 5, n. 10, p. 2349-2360, 1991.

HEATH, K. V. et al. Incidence of morphological and lipid abnormalities: gender and treatment differentials after initiation of first antiretroviral therapy. **Int. J. Epidemiol.**, v. 31, n. 5, p. 1016-1020, 2002.

HOLMBERG, S. D. et al. Protease inhibitors and cardiovascular outcomes in patients with HIV-1. **Lancet**, v. 360, p. 1747–1748, 2002.

IDE, A. et al. Association between IL-18 gene promoter polymorphisms and CTLA-4 gene 49A/G polymorphism in Japanese patients with type 1 diabetes. **J. Autoimmun.**, v. 22, n. 1, p. 73-78, 2004.

JAN, V. et al. Altered fat differentiation and adipocytokine expression are inter-related and linked to morphological changes and insulin resistance in HIV-1-infected lipodystrophic patients. **Antivir. Ther.**, v. 9, p. 555–564, 2004.

JOHNSON, J. A. et al. Increased systemic and adipose tissue cytokines in patients with HIV-associated lipodystrophy. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 286, p. 261–271, 2004.

JORDE, L. B. et al. **Genética médica.** 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2000.

KALYANARAMAN, V. S. et al. Antibodies in human sera reactive against an internal structural protein of human T-cell lymphoma virus. **Nature**, v. 294, n. 5838, p. 271-273, 1981.

KALYANARAMAN, V. S. et al. A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. **Science**, v. 218, n. 4572, p. 571-573, 1982.

KANBUR, N. et al. Tumor necrosis factor alpha-308 gene polymorphism in patients with anorexia nervosa. **Turk. J. Pediatr.**, v. 50, n. 3, p. 219-222, 2008.

KASAHARA, T. et al. Interleukin 2-mediated immune interferon (IFN-gamma) production by human T cells and T cell subsets. **J. Immunol.**, v. 130, n. 4, p. 1784-1789, 1983.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia:** básica e clínica. Tradução Patrícia Lydie Voeux. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

KEET, I. P. M. et al. Characteristics of long-term asymptomatic infection with human immunodeficiency virus type I in men with normal and low CD4+ cell counts. **J. Infect. Dis.**, v. 169, p. 1236-1243, 1994.

LAGATHU, C. et al. Antiretroviral drugs with adverse effects on adipocyte lipid metabolism and survival alter the expression and secretion of proinflammatory cytokines and adiponectin in vitro. **Antivir. Ther.**, v. 9, n. 6, p. 911-920, 2004.

LAMBERT, D. M. et al. Human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitors irreversibly block infectivity of purified virions from chronically infected cells. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 36, n. 5, p. 982-988, 1992.

LEARMONT, J. et al. Long-term symptomless HIV-1 infection in recipients of blood products from a single donor. **Lancet**, v. 340, p. 863-867, 1992.

LEDRU, E. et al. Alteration of tumor necrosis factor-alpha T-cell homeostasis following potent antiretroviral therapy: contribution to the development of human immunodeficiency virus-associated lipodystrophy syndrome. **Blood**, v. 95, p. 3191–3198, 2000.

LICHTENSTEIN, K. A. et al. Clinical assessment of HIV-associated lipodystrophy in an ambulatory population. **AIDS**, v. 15, p. 1389–1398, 2001.

LICHTENSTEIN, K. A. et al. Incidence of and risk factors for lipoatrophy (abnormal fat loss) in ambulatory HIV-1-infected patients. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 32, n. 1, p. 48-56, 2003.

LICHTENSTEIN, K. A. Redefining lipodystrophy syndrome: risks and impact on clinical decision making. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 39, n. 4, p. 395-400, 2005.

LIHN A. S. et al. Increased expression of TNF-alpha, IL-6, and IL-8 in HALS: implications for reduced adiponectin expression and plasma levels. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 285, p. 1072–1080, 2003.

LIM, S. E.; COPELAND, W. C. Differential incorporation and removal of antiviral deoxynucleotides by human DNA polymerase gamma. **J. Biol. Chem.**, v. 276, n. 26, p. 23616-23623, 2001.

LINDEGAARD, B. et al. Adipose tissue expression of IL-18 and HIV-associated lipodystrophy. **AIDS**, v. 18, n. 14, p. 1956-1958, 2004a.

LINDEGAARD, B. et al. High plasma level of interleukin-18 in HIV-infected subjects with lipodystrophy. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 36, n. 1, p. 588-593, 2004b.

LIU, Y. et al. Genetic polymorphisms of the interleukin-18 gene and risk of prostate cancer. **DNA Cell Biol.**, v. 26, n. 8, p. 613-618, 2007.

LO, J. C. et al. "Buffalo hump" in men with HIV-1 infection. **Lancet.**, v. 351, n. 9106, p. 867-870, 1998.

MADGE, S. et al. Lipodystrophy in patients naive to HIV protease inhibitors. **AIDS**, v. 13, n. 6, p. 735-737, 1999.

MAHER, B. et al. TNF-α promoter region gene polymorphisms in HIV-positive patients with lipodystrophy. **AIDS**, v. 16, p. 2013–2018, 2002.

MARTINEZ, E. et al. Risk of lipodystrophy in HIV-1-infected patients treated with protease inhibitors: a prospective cohort study. **Lancet**, v. 357, n. 9256, p. 592-598, 2001.

MILLER, A. S.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA for human nucleated cells. **Nucleic Acids Res.**, v. 16, p. 1215, 1988.

MYNARCIK, D. C. et al. Association of severe insulin resistance with both loss of limb fat and elevated serum tumor necrosis factor receptor levels in HIV lipodystrophy. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 25, p. 312–321, 2000.

NIKITEAS, N. et al. Heterozygosity for interleukin-18 -607 A/C polymorphism is associated with risk for colorectal cancer. **Anticancer Res.**, v. 27, n. 6B, p. 3849-3853, 2007.

NOLAN, K. F.; GREAVES, D. R.; WALDMANN, H. The human interleukin 18 gene IL18 maps to 11q22.2-q22.3, closely linked to the DRD2 gene locus and distinct from mapped IDDM loci. **Genomics**, v. 51, p. 161-163, 1998.

NOLAN, D. et al. Tumour necrosis factor-alpha gene -238G/A promoter polymorphism associated with a more rapid onset of lipodystrophy. **AIDS**, v. 17, n, 1, p. 121-123, 2003a.

NOLAN, D. et al. Mitochondrial DNA depletion and morphologic changes in adipocytes associated with nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy. **AIDS**, v. 17, n. 9, p. 1329–1338, 2003b.

NORBIATO, G. et al. Fat redistribution in HIV-infected patients. A new hormonal-immune disorder? **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 917, p. 961-955, 2000.

NUESCH, R. et al. Monitoring the toxicity of antiretroviral therapy in resource limited settings: a prospective clinical trial cohort in Thailand. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 58, n. 3, p. 637-644, 2006.

OKAMURA, H. et al. Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. **Nature**, v. 378, p. 88–91, 1995.

PACE, C. S. et al. Mitochondrial proliferation, DNA depletion and adipocyte differentiation in subcutaneous adipose tissue of HIV-positive HAART recipients. **Antivir. Ther.**, v. 8, n. 4, p. 323-331, 2003.

PALELLA, F. J. et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. **N. Engl. J. Med.**, v. 338, n. 13, p. 853-860, 1998.

PANTALEO, G. et al. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. **Nature**, v. 362, p. 355-358, 1993.

POIESZ, B. J. et al. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 77, n.12, p. 7415-7419, 1980.

PONTES CARDOSO, L. C. R. Cytokines profile and clinical-metabolic alterations in HIV-1-infected individuals with and without lypodistrophy. **J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.**, v. 12, n. 1, p.152, 2006.

PRAVICA, V. et al. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. **Hum. Immunol.**, v. 61, n. 9, p. 863-866, 2000.

PUREN, A. J. et al. Interleukin-18 (IFN-γ-inducing factor) induces IL-1β and IL-8 via TNF-α production from non-CD14+ human blood mononuclear cells. **J. Clin. Invest.**, v. 101, p. 711-721, 1998.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **J. Hered.**, v. 86, p. 248-249, 1995a.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. An exact test for population differentiation. **Evolution**, v. 49, p. 1280-1283, 1995b.

REIMAN, M. et al. Interleukin-6 polymorphism is associated with chorioamnionitis and neonatal infections in preterm infants. **J. Pediatr.**, v. 153, n. 1, p. 19-24, 2008.

REITZ, M. S. Jr. et al. Characterization and distribution of nucleic acid sequences of a novel type C retrovirus isolated from neoplastic human T lymphocytes. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 78, n. 3, p. 1887-1891, 1981.

RHO, H. M. et al. Characterization of the reverse transcriptase from a new retrovirus (HTLV) produced by a human cutaneous T-cell lymphoma cell line. **Virology**, v. 112, n. 1, p. 355-360, 1981.

RICKERTS, V. et al. Incidence of myocardial infarctions in HIV-infected patients between 1983 and 1998: the Frankfurt HIV-cohort study. **Eur. J. Med. Res.**, v. 5, p. 329–333, 2000.

ROBERT-GUROFF, M. et al. Detection of the human T cell lymphoma virus p19 in cells of some patients with cutaneous T cell lymphoma and leukemia using a monoclonal antibody. **J. Exp. Med.**, v. 154, n. 6, p. 1957-1964, 1981.

ROCHA, V. Z. et al. Interferon-gamma, a Th1 cytokine, regulates fat inflammation: a role for adaptive immunity in obesity. **Circ. Res.**, v. 103, n. 5, p. 467-476, 2008.

SANCHES, R. S. **Lipodistrofia em pacientes sob terapia anti-retroviral: subsídios para o cuidado de enfermagem a portadores do HIV-1**. 2008. 101 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

SÃO PAULO. Secretaria do Estado da Saúde de São Paulo. Programa Estadual de DST/aids. Boletim Epidemiológico, dezembro de 2007. Disponível em: http://www.crt.saude.sp.gov.br/resources/crt_aids/pdfs/boletim_epidemiologico_2007.pdf. Acesso em: 06 nov. 2008.

SAUMOY, M. et al. The IL-6 system in HIV-1-infection and in HAART-related fat redistribution syndromes. **AIDS**, v. 22, n. 7, p. 893-896, 2008.

SEGAT, L. et al. IL-18 gene promoter polymorphism is involved in HIV-1 infection in a Brazilian pediatric population. **Immunogenetics**, v. 58, p. 471–473, 2006.

SEVASTIANOVA, K. et al. Adipose tissue inflammation and liver fat in patients with highly active antiretroviral therapy-associated lipodystrophy. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 295, n. 1, p. 85-91, 2008.

SHAW, A. J.; McLEAN, K. A.; EVANS, B. A. Disorders of fat distribution in HIV infection. I**nt. J. STD AIDS**, v. 9, n. 10, p. 595-599, 1998.

SIEGEL, S. **Estatística não-paramétrica para ciências do comportamento**. Rio de Janeiro: Ed Macgraw Hill, 1975.

SILVA, M. M. **Polimorfismo do Fator de Necrose Tumoral (TNF) na síndrome da lipodistrofia associada à terapia anti-retroviral em portadores do HIV-1**. 2008. 154f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

SKURK, T. et al. The proatherogenic cytokine interleukin-18 is secreted by human adipocytes. **Eur. J. Endocrinol.**, v. 152, p. 863–868, 2005.

SONG, W. et al. Interleukin 18 and human immunodeficiency virus type I infection in adolescents and adults. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 144, n. 1, p. 117-124, 2006.

STEIN, J. H. et al. Use of human immunodeficiency virus-1 protease inhibitors is associated with atherogenic lipoprotein changes and endothelial dysfunction. **Circulation**, v. 104, n. 3, p. 257–262, 2001.

STEPHENS, M.; SMITH, N. J.; DONNELLY, P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 68: p. 978-989, 2001.

THORAND, B. et al. Elevated levels of interleukin-18 predict the development of type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA Augsburg Study, 1984-2002. **Diabetes**, v. 54, n. 10, p. 2932-2938, 2005.

TOMAZIC, J. et al. Lipodystrophy and metabolic abnormalities in Slovenian HIV infected patients. **Wien. Klin. Wochenschr.**, v. 116, p. 755-759, 2004.

TRENT, J. M.; OLSON, S.; LAWN, R. M. Chromosomal localization of human leukocyte, fibroblast, and immune interferon genes by means of in situ hybridization. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 79, n. 24, p. 7809-7813, 1982.

TRIPP, C. S.; WOLF, S. F.; UNANUE, E. R. Interleukin 12 and tumor necrosis factor alpha are costimulators of interferon gamma production by natural killer cells in severe combined immunodeficiency mice with listeriosis, and interleukin 10 is a physiologic antagonist. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 90, n. 8, p. 3725–3729, 1993.

TRUJILLO. M. E. et al. Interleukin-6 regulates human adipose tissue lipid metabolism and leptin production in vitro. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 89, n. 11, p. 5577–5582, 2004.

UDAGAWA, N. et al. Interleukin-18 (interferon-gamma-inducing factor) is produced by osteoblasts and acts via granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and not via interferon-gamma to inhibit osteoclast formation. **J. Exp. Med.**, v. 185, p. 1005–1012, 1997.

UNAIDS. Report on the global HIV/AIDS epidemic 2008. Disponível em: <http://www.unaids.org/en/KnowledgeCentre/HIVData/GlobalReport/2008/2008_Global_report.asp>. Acesso em: 03 nov. 2008.

VAISHNAV, Y. N.; WONG-STALL, F. The biochemistry of AIDS. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 60, p. 577-630, 1991.

VALLE, R.; HARAGSIM, L. Nephrotoxicity as a complication of antiretroviral therapy. **Adv. Chronic Kidney Dis.**, v. 13, n. 3, p. 314-319, 2006.

VIRABEN, R.; AQUILINA, C. Indinavir-associated lipodystrophy. **AIDS**, v. 12, n. 6, p. 37-39, 1998.

WANG, W. K. et al. Molecular biology of human immunodeficiency virus type 1. **J. Microbiol. Immunol. Infect.**, v. 33, n. 3, p. 131-140, 2000.

Apêndices

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Os remédios usados para o tratamento da aids podem provocar, em algumas pessoas, uma deposição da gordura do corpo diferente, reduzindo a gordura do rosto, dos braços e das pernas, e aumentando a gordura no peito e na barriga, produzindo em alguns casos, o que é chamado de lipodistrofia. Os mecanismos para que ocorra a lipodistrofia, após o tratamento da aids, ainda não são entendidos.

Por esse motivo, estamos fazendo um estudo chamado ”Polimorfismo da interleucina 18 (IL-18) e do interferon gama (INF-γ) na síndrome da lipodistrofia associada à terapia anti-retroviral em portadores do HIV-1“. Nesse estudo, estamos tentando identificar alguns fatores genéticos que possam estar associados com o desenvolvimento da lipodistrofia e vamos comparar as pessoas portadoras do HIV com e sem lipodistrofia com as pessoas saudáveis. Assim, gostaríamos que você participasse desse estudo. Se você aceitar, será colhido 10 mL de sangue da veia do seu braço para fazer a pesquisa. A coleta será realizada por mim, enfermeira, em uma sala reservada, enquanto você espera pelo atendimento médico, o que levará no máximo 10 minutos. Precisaremos coletar também alguns dados a respeito de sua saúde e seus exames no seu prontuário médico.

Você não é obrigado a participar deste estudo e tem a liberdade de não participar. Caso isto ocorra, o atendimento neste hospital continuará ocorrendo da mesma forma. Você não gastará e nem ganhará nenhum dinheiro para participar deste estudo. Os resultados dessa pesquisa serão publicados em revistas científicas e estarão garantidos o sigilo e anonimato do seu nome.

Assim, eu_____, RG _____, abaixo assinado, após ter recebido as informações da enfermeira Luciana Castelar, concordo em participar dessa pesquisa, tendo garantido os meus direitos abaixo relacionados:

- Direito de receber resposta a qualquer pergunta ou dúvida sobre o tema;
- Direito de deixar de participar da pesquisa a qualquer momento, sem prejuízo atual e futuro a minha assistência;
- Direito de não ser identificado e ter minha privacidade preservada.

Esclareço que em caso de dúvida, fui orientado a procurar a Profa. Dra. Ana Paula Morais Fernandes na Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto – USP, local de seu trabalho, no horário das 8:00h às 17:00h, de segunda a sexta-feira. Telefone: 16- 3602-3459.

Declaro que tenho conhecimento dos direitos acima descritos e consinto em participar deste estudo realizado pela pesquisadora que subscreve este termo de consentimento.

De acordo,

Ribeirão Preto, _____ de _____ de 2007.

_____ _____

Assinatura do participante do estudo Assinatura da pesquisadora

APÊNDICE B - Ficha de acompanhamento

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO:

1- Iniciais Reg: Data:
2- Data de nascimento: / /
3- Idade (anos):
(1) 15 I- 19 (4) 30 I- 34 (7) 45 I- 49 (h) 60 I- ou mais
(2) 20 I- 24 (5) 35 I- 39 (8) 50 I-54
(3) 25 I- 29 (6) 40 I- 44 (9) 55 I-59
4- Sexo: (1) Masculino (2) Feminino (3) Transgênero
5- Cor: (1) Branca (2) Negra (3) Parda (4) Amarela
6- Escolaridade: (1) Superior (2) Médio (3) Fundamental (4) Analfabeto
série.....

CONDIÇÕES ATUAIS DE INFECTOLOGIA

7- Carga viral: .....Data / /
8- Número linfócitos T CD4+: .....Data / /

HISTÓRICO

9- Quanto tempo tem de diagnóstico HIV+? (1) Mais 10 anos (2) 9-6 anos (3) 5-2 anos
(4) 1 ano e 6 meses (5) Outro.....
10- Quanto tempo tem de tratamento ARV? (1) Mais 10 anos (2) 9-6 anos (3) 5-2 anos
(4) 1 ano e 6 meses (5) Outro.....

MEDICAÇÃO

11- Esquema anti-retroviral:
Medicação ARV em uso?
a- Nome.....horário.....quantidade.....
b- Nome.....horário.....quantidade.....
c- Nome.....horário.....quantidade.....

DADOS SOMATOMÉTRICOS:

12- Altura: Peso: Circunferência abdominal:

ALTERAÇÕES CLÍNICO-LABORATORIAIS

13- Alteração morfológica:
(1) Circunf abdominal (2) Circunf torácica (3) Circunf MMSS (4) Pelota Cervical (5) Circunf MMII (6) Face (7) Nádegas (8) Realce venoso (9) Outro

14- Alterações metabólicas:
(1) Colesterol total..... (4)triglicérides.....
(2) HDL colesterol..... (5) glicemia .....
(3) LDL colesterol.....

APÊNDICE C – Caracterização dos pacientes

Tabela 1 - Caracterização dos pacientes portadores da infecção pelo HIV-1 que apresentam a síndrome da lipodistrofia segundo idade, alterações morfológicas, níveis séricos de colesterol total, HDL, LDL, triglicerídeos, carga viral, número de células T $CD4^+$, tempo de uso da terapêutica anti-retroviral (ARV) e tipo de anti-retroviral ulitizado pelos pacientes por ocasião da sua inclusão no estudo.

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
1	38	Sem alterações	264	37	175	260	< 50	461	7	AZT, 3TC, NFV
2	42	Face	160	16	80	322	38.658	21	11	3TC
3	51	Abdome, face, nádegas, realce venoso	356	54	224	389	-	-	11	d4T, ddI, EFZ, LPV/r
4	38	Sem alterações	231	32	173	126	< 50	524	5	AZT, 3TC, EFZ
5	33	Sem alterações	177	42	86	244	562	243	4	SQV, LPV/r, 3TC, TDF
6	39	Face	298	48	208	208	< 50	1078	10	AZT, IDV, RTV, EFZ
7	45	Abdome, MMSS, MMII, face, nádegas	154	29	44	620	135.160	163	10	SQV, TDF, LPV/r, 3TC

Continua

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
8	33	Abdome, MMSS, MMII, face	149	35	82	156	25.372	178	10	APV, RTV, 3TC, TDF, EFZ
9	53	Abdome, MMSS, MMII, dorsocervical, face	211	39	176	485	< 50	966	8	AZT, 3TC, EFZ
10	50	MMSS, MMII, face	120	22	55	216	< 50	864	9	TDF, d4T, LPV, RTV
11	45	Abdome, MMSS, MMII	292	38	162	1305	< 50	889	7	d4T, 3TC, NVP
12	44	Abdome	220	32	112	385	91	492	6	d4T, ddI, ATV
13	44	Sem alterações	262	34	178	247	< 50	487	3	d4T, ddI, EFZ, LPV/r
14	45	Abdome, MMSS, MMII	183	38	102	216	< 50	322	7	AZT, EFZ, IDV
15	61	Abdome, MMSS, MMII, face	232	39	138	277	< 50	214	9	TDF, 3TC, LPV, EFZ
16	46	Abdome	363	29	172	1341	< 50	693	7	AZT, ddI, IDV, RTV
17	45	Face	176	48	111	85	< 50	384	10	d4T, 3TC, EFZ

Continuação

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
18	30	Sem alterações	282	38	126	558	< 50	375	3,5	AZT, 3TC, LPV/r
19	47	Sem alterações	195	32	102	303	< 50	638	10	AZT, 3TC, EFZ
20	38	Face	234	37	177	97	< 50	590	7,5	d4T, 3TC, EFZ
21	47	MMSS, MMII, face	217	34	109	366	73.979	192	8	LPV/r, SQV, 3TC, EFZ, TDF
22	49	Face	205	40	121	216	< 50	1078	7,5	LPV/r, d4T, ddI
23	44	Abdome, MMSS, MMII, face	153	38	82	158	< 50	770	11	AZT, 3TC, NVP
24	42	Abdome, dorsocervical	231	47	155	148	< 50	659	13	AZT, 3TC, TDF, LPV/r
25	39	Abdome	242	36	134	358	< 50	1146	10	RTV, ATV, d4T, 3TC
26	39	MMSS, face	116	26	29	306	406	496	12	AZT, 3TC, EFZ
27	40	Face	140	60	64	83	< 50	318	3,5	AZT, 3TC, EFZ
28	65	Abdome, mama	270	38	167	327	89	669	9	d4T, 3TC, ATV, RTV

Continuação

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
29	37	Sem alterações	214	29	162	115	< 50	457	10	AZT, 3TC, NFV
30	60	Abdome, dorsocervical, face	295	43	183	417	< 50	781	10	d4T, 3TC, EFZ
31	53	Abdome, nádegas, realce venoso	252	52	170	159	< 50	408	2	AZT, 3TC, EFZ
32	35	Abdome, MMSS, MMII, face, nádegas, realce venoso, mama	212	37	120	275	216.523	198	10	TDF, 3TC, APV, RTV, EFZ
33	48	Abdome, face	198	36	136	146	153	750	4,5	ABC, 3TC, EFZ
34	33	Face	246	45	173	173	6.416	306	7,5	AZT, 3TC, NVP
35	43	Face	132	39	78	75	< 50	311	3,5	AZT, 3TC, EFZ
36	54	Sem alterações	245	45	180	104	< 50	439	8	AZT, 3TC, NFV
37	46	Abdome, MMSS, MMII, pelota cervical, face, nádegas	243	33	168	211	< 50	1052	10	TDF, 3TC, EFZ
38	32	Abdome, face	248	34	158	278	< 50	1228	10	TDF, NVP, 3TC

Continuação

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
39	37	Face	171	29	64	392	62.533	14	7,5	TDF, 3TC, ATV, LPV/r
40	44	Sem alterações	191	34	109	240	< 50	547	1,5	AZT, 3TC, EFZ
41	49	Abdome	208	37	96	377	< 50	555	4	AZT, 3TC, EFZ
42	45	Abdome, MMSS, face	186	38	94	267	300.679	45	8	TDF, 3TC, LPV/r
43	50	Face	167	41	107	90	< 50	572	10	LPV/r, TDF, 3TC
44	43	Sem alterações	231	35	35	862	88	475	3	AZT, 3TC, EFZ
45	36	Abdome, MMSS, nádega, mama	182	48	117	82	6.005	748	8	AZT, 3TC, NVP
46	60	Abdome, MMSS, face	178	29	113	180	14.206	389	10	d4T, 3TC, RTV
47	36	Face	161	39	45	386	< 50	1591	10	AZT, ddI, IDV
48	31	Sem alterações	263	46	181	186	< 50	514	2	AZT, 3TC, EFZ
49	29	Abdome, mama	178	41	110	133	< 50	800	6	TDF, 3TC, EFZ

Continuação

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
50	36	Face	224	32	162	144	< 50	702	10	TDF, 3TC, NVP
51	34	Sem alterações	157	37	69	253	57	1021	3	AZT, 3TC, LPV/r
52	39	Face	278	28	200	248	< 50	815	3	3TC, EFZ, RTV
53	40	Abdome, MMSS, MMII	220	22	Indeterm	654	< 50	411	6	TDF, 3TC, EFZ, LPV/r
54	36	Abdome, MMSS, MMII, face	214	23	Indeterm	1005	324.144	6	3	3TC, TDF, AZT, EFZ, ATV
55	44	MMSS, MMII	219	37	121	304	< 50	296	2,8	AZT, EFZ
56	36	Sem alterações	243	50	149	217	< 50	1019	7	AZT, 3TC, EFZ
57	40	MMSS, MMII, face	186	21	120	222	13.406	105	4	3TC, d4T, EFZ
58	61	Abdome, MMSS, MMII, face	206	35	107	316	5.532	342	6	3TC, d4T, EFZ
59	31	Sem alterações	250	52	148	197	< 50	849	5	3TC, EFZ, RTV
60	45	Sem alterações	289	31	Indeterm	1131	< 50	795	1,5	AZT, 3TC

Continuação

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
61	47	Sem alterações	173	27	89	282	< 50	506	5	3TC, TDF, LPV/r
62	42	Sem alterações	223	47	157	90	< 50	468	8	AZT, 3TC, IDV, RTV
63	45	Sem alterações	224	33	170	101	56	728	15	d4T, ddI, NFV, EFZ
64	39	MMSS, MMII, face	174	26	96	257	58.568	216	7	3TC, ddI, EFZ, NFV
65	35	Abdome, face	129	31	43	275	83	98	6	3TC, TDF, RTV, ATV
66	46	Sem alterações	209	31	122	280	< 50	701	3	AZT, 3TC, EFZ
67	35	Abdome, MMSS, MMII, face	99	34	67	211	23.578	73	4	ddI, d4T, EFZ
68	38	Face, mama	132	37	55	198	146.828	201	4	3TC, EFZ, SQV, RTV
69	34	MMSS, MMII, face	163	40	88	174	210	454	6	ddI, d4T, IDV
70	46	Abdome, tórax	229	49	142	186	7.020	461	4	AZT, ddI
71	45	Abdome, face	115	20	25	350	469	132	9	3TC, TDF, ATV, RTV, T-20

Continuação

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
72	39	Abdome, MMSS, MMII, face, realce venoso	174	87	107	160	2.154	311	5	AZT, EFZ, LPV/r
73	43	Sem alterações	200	41	118	302	250	178	3	AZT, 3TC
74	46	Sem alterações	248	64	138	228	< 50	492	6,5	AZT, 3TC
75	42	Face	124	43	41	196	< 50	334	10	AZT, 3TC, LPV/r
76	36	Sem alterações	242	96	115	152	< 50	716	6	AZT, 3TC, EFZ
77	50	MMII, face	204	83	110	53	20.319	531	8	AZT, 3TC, EFZ
78	42	Abdome, MMSS, MMII, face, nádegas	158	48	85	124	12.953	369	10	TDF, 3TC, SQV, AZT, RTV, T-20
79	50	Abdome	137	42	71	118	27.252	229	5	AZT, 3TC, EFZ
80	37	Sem alterações	191	58	Indeterm	442	1.692	565	4	AZT, 3TC, EFZ
81	41	Sem alterações	243	36	Indeterm	434	< 50	1134	3	AZT, 3TC, EFZ
82	39	Sem alterações	176	33	79	318	4.218	442	6	TDF, 3TC, NVP, SQV, RTV

Continuação

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
83	58	Sem alterações	223	35	129	291	< 50	557	3	AZT, 3TC, LPV/r
84	46	Face	116	54	22	200	< 50	257	5	AZT, 3TC, EFZ
85	47	Sem alterações	234	28	158	242	< 50	274	2	AZT, 3TC, EFZ
86	35	Sem alterações	161	40	76	227	< 50	658	8	TDF, 3TC, ddI, LPV/r
87	38	Abdome, face, nádegas	267	36	170	298	< 50	703	10	d4T, ABC, EFZ, LPV/r
88	53	dorsocervical, face	230	26	indeterm	788	< 50	552	5	d4T, 3TC, EFZ

Conclusão

MMSS – membros superiores; **MMII –** membros inferiores; **indeterm** – valor indeterminado; Inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN): **AZT –** Zidovudina; **ddI –** Didanozina; **ABC -** Abacavir; **d4T –** Estavudina; **3TC –** Lamivudina; **TDF –** Tenofovir; Inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNN): **EFZ –** Efavirenz; **NVP –** Nevirapina; Inibidores de protease (IP): **IDV –** Indinavir; **ATV –** Atazanavir; **NFV –** Nelfinavir; **RTV –** Ritonavir; **SQV –** Saquinavir; **APV -** Amprenavir; **LPV/r -**(Lopinavir/Ritonavir); Inibidor de fusão (IF): **T- 20 –** Enfuvirtida; Valores normais: Colesterol total: < 200 mg/dL; HDL: >35 mg/dL; LDL: < 130 mg/dL; Triglicerídeos: < 150 mg/dL.

Tabela 2 - Caracterização dos pacientes portadores da infecção pelo HIV-1 que não apresentam a síndrome da lipodistrofia segundo idade, alterações morfológicas, níveis séricos de colesterol total, HDL, LDL, triglicerídeos, carga viral, número de células T $CD4^+$, tempo de uso da terapêutica anti-retroviral (ARV) e tipo de anti-retroviral ulitizado pelos pacientes por ocasião da sua inclusão no estudo.

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
1	34	Sem alterações	140	51	67	109	10.949	105	7,5	3TC, EFZ, TDF, LPV/r,
2	37	Sem alterações	136	34	88	73	140.704	387	4	AZT, 3TC, NVP
3	49	Sem alterações	192	64	97	151	20.388	148	7	AZT, 3TC, EFZ
4	40	Sem alterações	140	32	96	58	< 50	727	2	AZT, 3TC, EFZ
5	40	Sem alterações	200	51	124	148	< 50	810	3,5	AZT, 3TC, ddI, LPV/r
6	32	Sem alterações	197	60	122	76	< 50	675	9	AZT, 3TC, EFZ
7	51	Sem alterações	174	39	118	83	< 50	602	3	AZT, 3TC, EFZ
8	36	Sem alterações	174	32	106	150	50.220	14	4	AZT, 3TC, EFZ
9	37	Sem alterações	156	42	87	135	45.599	213	10	ATV, AZT, 3TC, RTV
10	48	Sem alterações	110	45	45	98	1.023	563	9	AZT, 3TC, TDF, LPV/r, NVP
11	41	Sem alterações	155	38	87	147	< 50	286	10	TDF, 3TC, RTV, ATV

Continua

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
12	42	Sem alterações	124	28	81	72	< 50	293	7	TDF, 3TC, LPV/r
13	44	Sem alterações	180	46	124	55	< 50	622	5	AZT, 3TC, EFZ
14	37	Sem alterações	184	45	115	116	< 50	40	5	AZT, 3TC, EFZ
15	38	Sem alterações	185	30	129	130	< 50	1331	10	AZT, 3TC, LPV/r
16	47	Sem alterações	189	41	116	150	< 50	765	3	AZT, 3TC, EFZ
17	41	Sem alterações	127	37	67	113	50.307	14	4,5	AZT, 3TC, EFZ
18	45	Sem alterações	174	53	96	126	< 50	194	7,5	AZT, 3TC, EFZ
19	39	Sem alterações	137	52	68	83	< 50	441	8	TDF, 3TC, ATV, RTV
20	51	Sem alterações	177	34	121	110	24.077	216	10	TDF, 3TC, ATV, RTV
21	36	Sem alterações	112	21	80	55	< 50	709	5	AZT, 3TC, ATV
22	22	Sem alterações	136	22	83	151	43.344	19	8	TDF, d4T, LPV/r
										Continuação
23	32	Sem alterações	184	63	112	46	< 50	254	3	AZT, 3TC, EFZ

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
24	18	Sem alterações	119	32	74	66	< 50	548	3	AZT, 3TC, TDF, ATV, RTV
25	34	Sem alterações	119	48	61	50	< 50	395	2	AZT, 3TC, LPV/r
26	42	Sem alterações	178	45	115	88	492	373	10	d4T, 3TC, EFZ
27	40	Sem alterações	160	49	95	81	< 50	253	3,5	AZT, 3TC, NVP
28	44	Sem alterações	163	52	83	105	< 50	302	5	AZT, 3TC, EFZ
29	33	Sem alterações	144	31	96	81	< 50	676	3	AZT, 3TC, ATV, EFZ
30	41	Sem alterações	169	44	106	91	81.915	160	7,5	d4T, 3TC, ATV
31	40	Sem alterações	169	47	108	68	< 50	406	7,5	AZT, 3TC, EFZ
32	65	Sem alterações	182	34	120	140	22.766	448	8	d4T, 3TC, ATV, RTV
33	52	Sem alterações	164	41	109	70	< 50	345	4	AZT, 3TC, NVP
34	38	Sem alterações	168	35	108	136	< 50	483	9	ddI, d4T, NFV, NVP
										Continuação
35	29	Sem alterações	185	36	132	87	2.573	289	10	AZT, 3TC, EFZ

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
36	56	Sem alterações	181	71	95	70	44.300	344	9	TDF, 3TC, LPV/r
37	25	Sem alterações	177	39	113	126	< 50	923	3	AZT, 3TC, EFZ
38	39	Sem alterações	156	39	86	150	19.394	258	11	3TC, EFZ, SQV, RTV
39	44	Sem alterações	160	56	91	68	< 50	305	3,5	AZT, 3TC, NFV
40	35	Sem alterações	139	43	86	49	< 50	750	5	AZT, 3TC, EFZ
41	49	Sem alterações	158	41	105	60	2.366	319	2	AZT, 3TC, ATV, RTV
42	46	Sem alterações	139	40	72	138	< 50	629	6	AZT, 3TC, NVP
43	40	Sem alterações	122	36	69	92	< 50	518	2	AZT, 3TC, EFZ
44	41	Sem alterações	175	38	114	112	< 50	311	2	AZT, 3TC, EFZ
45	37	Sem alterações	158	33	115	49	< 50	805	8	AZT, 3TC, EFZ

Continuação

46	31	Sem alterações	175	37	114	120	< 50	158	2	AZT, 3TC, EFZ

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
47	46	Sem alterações	198	65	110	117	< 50	447	6	AZT, 3TC, EFZ
48	31	Sem alterações	131	33	86	58	< 50	411	5	AZT, 3TC, EFZ
49	34	Sem alterações	143	42	84	87	< 50	496	4	AZT, 3TC, EFZ
50	26	Sem alterações	161	36	104	104	< 50	545	3	AZT, 3TC, EFZ
51	44	Sem alterações	134	58	69	62	< 50	106	8	3TC, d4T, EFZ
52	44	Sem alterações	178	26	127	124	75.347	195	4	AZT, 3TC, EFZ
53	44	Sem alterações	153	31	94	138	4.354	161	7	AZT, 3TC, EFZ
54	43	Sem alterações	160	58	82	96	5.060	57	6	AZT, 3TC, EFZ
55	32	Sem alterações	187	69	98	98	< 50	622	4	AZT, 3TC, EFZ
56	41	Sem alterações	200	30	89	150	30.652	18	2	AZT, 3TC, NVP
57	48	Sem alterações	149	36	88	121	463	383	4	AZT, 3TC, NFV
										Continuação
58	46	Sem alterações	140	34	84	109	3.801	382	15	AZT, 3TC, NVP

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
59	42	Sem alterações	162	39	66	83	< 50	341	2	3TC, TDF, EFZ
60	44	Sem alterações	191	53	61	138	< 50	234	7	3TC, NVP
61	24	Sem alterações	121	35	68	89	< 50	1114	5	d4T, 3TC, NVP
62	33	Sem alterações	160	41	107	56	< 50	617	5	AZT, 3TC, EFZ
63	36	Sem alterações	174	42	119	62	< 50	1221	4	d4T, 3TC, EFZ
64	36	Sem alterações	93	18	58	82	< 50	429	1,6	AZT, 3TC, EFZ
65	41	Sem alterações	148	36	82	153	< 50	759	6	AZT, 3TC, EFZ
66	45	Sem alterações	193	60	101	132	19.894	479	4	TDF, 3TC, LPV/r
67	40	Sem alterações	155	44	98	61	19.089	974	4	AZT, 3TC, SQV, RTV
68	32	Sem alterações	200	36	175	108	19.181	257	3	AZT, 3TC, EFZ
69	45	Sem alterações	153	32	93	136	175.389	33	4	AZT, EFZ
										Continuação
70	46	Sem alterações	200	32	100	150	< 50	297	1,5	AZT, 3TC, TDF

Paciente	Idade (anos)	Alterações Morfológicas	Colesterol Total (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Carga Viral (cópias/mL)	$CD4^+$ (cél/mm^3)	Tempo de uso de ARV (anos)	ARV em uso
71	61	Sem alterações	164	36	98	147	< 50	317	4	AZT, 3TC, EFZ
72	35	Sem alterações	158	31	110	82	24.581	436	3	AZT, 3TC, EFZ
73	38	Sem alterações	131	39	58	70	503	541	6	AZT, 3TC, TDF, LPV/r
74	47	Sem alterações	144	43	82	93	343	197	6	d4T, ddI, EFZ
75	34	Sem alterações	182	31	129	113	59	633	5	AZT, 3TC, NFV
76	42	Sem alterações	200	53	139	88	1.471	598	6	d4T, ddI, EFZ, NFV
77	39	Sem alterações	131	30	89	60	609	306	8	AZT, 3TC, EFZ
78	33	Sem alterações	183	35	119	145	< 50	425	4	AZT, 3TC, EFZ
79	30	Sem alterações	119	45	64	49	< 50	265	4	d4T, 3TC, NFV
										Conclusão

Inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN): **AZT –** Zidovudina; **ddI –** Didanozina; **d4T –** Estavudina; **3TC –** Lamivudina; **TDF –** Tenofovir; Inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNN): **EFZ –** Efavirenz; **NVP –** Nevirapina; Inibidores de protease (IP): **ATV –** Atazanavir; **NFV –** Nelfinavir; **RTV –** Ritonavir; **SQV –** Saquinavir; **LPV/r -**(Lopinavir/Ritonavir); Valores normais: Colesterol total: < 200 mg/dL; HDL: >35 mg/dL; LDL: < 130 mg/dL; Triglicerídeos: < 150 mg/dL.

Anexos

ANEXOS

ANEXO A - Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.fmrp.usp.br

USP - RIBEIRÃO

Ribeirão Preto, 12 de setembro de 2007

Ofício nº 3132/2007
CEP/EGS

Senhora Professora,

O trabalho intitulado **"POLIMORFISMO DA INTERLEUCINA 18 (IL-18), DA INTERLEUCINA 10 (IL-10) E DO INTERFERON GAMA (INF-γ) NA SÍNDROME DA LIPODISTROFIA ASSOCIADA À TERAPIA ANTI-RETROVIRAL EM PORTADORES DO HIV-1",** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 254ª Reunião Ordinária realizada em 10/09/2007, e enquadrado na categoria: **APROVADO,** de acordo com o Processo HCRP nº 5761/2007.

Lembramos que devem ser encaminhados a este CEP relatórios semestrais e relatório final da pesquisa.

Atenciosamente.

PROF. DR. EDSON GARCIA SOARES
Membro Titular do Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssima Senhora
PROFª. DRª. ANA PAULA MORAIS FERNANDES(Orientadora)
LUCIANA CASTELAR
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto-USP

Comitê de Ética em Pesquisa HC e FMRP-USP- Campus Universitário
FWA-00002733; IRB-00002186
Fone (16) 3602-2228 - E-mail : cep@hcrp.fmrp.usp.br
Monte Alegre 14048-900 Ribeirão Preto SP

ANEXO B - Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.fmrp.usp.br

USP - RIBEIRÃO
assistência - ensino - pesquisa

Ribeirão Preto, 09 de outubro de 2007

Ofício nº 3520/2007
CEP/MGV

PROCESSO HCRP nº 7581/2007

Prezado Professor,

O Comitê de Ética em Pesquisa em sua 256ª Reunião Ordinária realizada em 08.10.2007, recebeu a "Proposta de criação do banco de amostras do núcleo de pesquisa em imunogenética (BANPI)" e a enquadrou na categoria: **APROVADO**, **bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.**

Atenciosamente.

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimo Senhor
PROF. DR. EDUARDO ANTONIO DONADI
Depto. de Clínica Médica – Laboratório de Imunologia Molecular

Comitê de Ética em Pesquisa HC e FMRP-USP - Campus Universitário
Fone (16) 3602-2228 - E-mail : cep@hcrp.fmrp.usp.br
Monte Alegre 14048-900 Ribeirão Preto SP