Luciana Morganti Ferreira Maselli

Estudo dos polimorfismos das paraoxonases 1 e 2 em
pacientes portadores do vírus da imunodeficiência
humana e avaliação do potencial de peroxidação lipídica.

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Área de Concentração: Alergia e
Imunopatologia

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Paulo
Bydlowski

São Paulo

2007

Para mim só existe
percorrer os caminhos
que tenham coração,
qualquer caminho
que tenha coração.

Ali viajo
e o único desafio que vale
é atravessá-lo
em toda a sua extensão.

E por ali viajo
olhando, olhando,
arquejante...

(DON JUAN, PERSONAGEM DE CARLOS CASTANEDA)

Ao meu marido **Michele**, exemplo de determinação, caráter e personalidade.
Por seu amor, pela família que formamos, por conviver com nossas
diferenças de valores, opiniões e crenças.

Aos meus filhos, meus meninos **Michele Filho** e **Lorenzo**, que
tornam meus dias mais felizes e completos; que me emocionam e me
ensinam que é possível amar mais e mais a cada dia.

Aos meus pais, **Reinaldo** e **Olga**, responsáveis por muito do que sou
hoje, por toda dedicação, amor e carinho sempre recebidos.

É verdade
que o mundo
não se limpa de guerras,
não se lava de sangue,
não se corrige do ódio,
é verdade.

Mas é igualmente verdade que nos
aproximamos de uma evidência:
os violentos se refletem no espelho
do mundo e seu rosto não é bonito
nem para eles mesmos.

E continuo acreditando na possibilidade do amor.

Tenho a certeza do entendimento
entre os seres humanos,
logrado sobre o sofrimento, sobre o sangue
e sobre os cristais quebrados.

(PABLO NERUDA)

AGRADECIMENTOS

- Ao **Prof. Dr. Sérgio Paulo Bydlowski** por mais esta oportunidade, por aceitar novamente orientar-me, pela confiança depositada (e por administrar tão sabiamente minhas angústias e temores de pós-graduanda).

- Ao **Prof. Titular Dalton de Alencar Fischer Chamone**, da disciplina de Hematologia e Hemoterapia da F.M.U.S.P., pela credibilidade e oportunidade de trabalhar com o Prof. Dr. Sérgio Paulo Bydlowski, possibilitando, assim, a execução de mais este trabalho.

- À **Dra. Eliana Bataggia Gutierrez**, diretora do Serviço de Extensão ao Atendimento de Pacientes HIV/AIDS - Casa da AIDS – do H.C.F.M.U.S.P. e toda a sua equipe, em especial aos funcionários da coleta e ao farmacêutico **Claudinei Alves Santana**, pela receptividade e enorme auxílio.

- Ao **Dr. Alfredo Mendrone Júnior**, responsável pela Divisão de Medicina Transfusional e ao **Dr. César de Almeida Neto** responsável pelo Ambulatório de Doadores da Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo, bem como a todos os funcionários destas áreas.

- Ao **Prof. Titular Jorge Kalil Filho**, da disciplina de Imunologia Clínica da F.M.U.S.P. e coordenador da pós-graduação na área de Alergia e

Imunopatologia, pela acessibilidade e genuíno interesse por cada aluno e cada estudo ali realizado.

- Ao **Dr. Claudio Sérgio Pannuti**, responsável pelo laboratório de Virologia da U.S.P., por gentilmente ceder-me os resultados de contagem de linfócitos T CD4+ e carga viral dos pacientes aqui incluídos.
- Ao **Dr. Nairo Massakazu Sumita**, responsável pelo Setor de Bioquímica do Laboratório Central do H.C.F.M.U.S.P., pela disponibilidade e colaboração na análise do perfil lipídico dos indivíduos aqui avaliados.
- Ao **Prof. Titular Raul Cavalcante Maranhão** e aos funcionários Carmen Vinagre e Renato Barbosa do Laboratório de Lípidos do INCOR, pelo auxílio.
- À **Profa. Dra. Regina Cardoso**, da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.
- Aos pacientes da Casa da AIDS, por sua confiança e colaboração com este estudo. Mais que uma amostra de material biológico para análise, cada um deles representa aqui uma vida com passado, presente e expectativas futuras.

- Aos doadores de sangue da Fundação Pró-Sangue/ Hemocentro de São Paulo pelos atos altruístas da doação de sangue e da participação neste estudo.
- Aos doutorandos **Andréa Turbuck Celestino** e **Jorge Maria Ruiz** e aos estudantes de iniciação científica **Kelly Bonamini** e **Gustavo Barroso**. Pela amizade, carinho, estímulo constante e auxílio durante a execução deste trabalho.
- Em especial à doutoranda **Débora Levy** por todos os motivos acima, acrescidos de uma enorme dose de altruísmo, paciência, injeções de ânimo, boa vontade e companheirismo.
- Ao farmacêutico-bioquímico **Antonio Carlos Magnanelli** e à **Dra. Estela Maria Novak** pelo auxílio e sugestões edificantes durante a composição deste estudo.
- Ao mestrando **Paulo Roberto Santos Ferreira** pela constante troca de informações e sugestões sobre a enzima estudada.
- Aos **Drs. Adriana de Aguiar Debes**, **Antonio Augusto Barbosa Lopes**, **Giovani Marino Fávero**, **Nair Yukie Maeda** e **Rosangela de Paula Silva Soares**, à mestre **Bárbara Cristina Gagliano Rezende**, aos pós-graduandos **Adriana Morgan de Oliveira**, **Felipe de Lara Janz**,

Graciela Aparecida Brocardo, João Henrique de Carvalho, Natália Mastantuono Nascimento, Samantha Carlos de Oliveira e aos estudantes de iniciação científica **Ester Risério Matos Bertoldi, Fernando Vilela da Silva, Luana Portes Ozório Coelho, Rafael Pereira Cassamassimo**, pela convivência diária no LIM-31 e na Divisão de Pesquisa da Fundação Pró-Sangue/ Hemocentro de São Paulo.

- À sras. **Cleide Menarhini Appolonio, Denise Sanches Cerdeira Chaves** e **Regina Maria Feitosa Gil** pelo ótimo humor, inteligência, carinho e amizade.
- À **Tânia Joyce**, secretária da pós-graduação da área de Alergia e Imunopatologia.
- Ao meu irmão **Reinaldo** e minha cunhada **Dafne**, meus compadres, pelo amor e companheirismo.
- Aos meus tios e padrinhos **Maria Lucia** e **Fabiano** por sempre me apoiarem, nortear e incentivarem nas mais diversas fases da minha vida.
- Aos queridos meus tios **Roberto** e **Regina**, pela torcida, com amor e carinho.

- Aos meus amigos e compadres **Sérgio Tavares Ferrador** e **Maria Inês Paranhos Leite** por nossa amizade.
- À **Marlene Carvalho de Oliveira**, por sua amizade e carinho para comigo e com minha família.

Lista de abreviaturas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Lista de anexos

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Lípidos e peroxidação lipídica.....	2
1.1.1 Lipoproteínas.....	5
1.2 Paraoxonases.....	9
1.2.1 Paraoxonase 1.....	10
1.2.1.1 PON1 e HDL.....	13
1.2.1.2 Polimorfismos de PON1 e atividade enzimática.....	15
1.2.2 Paraoxonase 2.....	18
1.2.2.1 Associação de Polimorfismos nos genes da PON1 e PON2.....	19
1.2.3 Paraoxonase 3.....	20
1.3 Lípidos e o Processo Infecioso.....	22
1.4 Vírus HIV, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) e Lípidos.....	24
2. OBJETIVOS.....	36
3. CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS.....	38

3.1 População Estudada.....	39
3.1.1 Pacientes.....	39
3.1.2 Portadores de HIV ao diagnóstico.....	40
3.1.3 Indivíduos Saudáveis.....	41
3.2 Obtenção das amostras de soro/ plasma.....	41
3.3 Reagentes.....	42
3.4 DNA genômico e genotipagem para os polimorfismos.....	43
3.4.1 Obtenção de DNA genômico a partir de células de sangue periférico.....	43
3.4.2 Quantificação do DNA genômico.....	46
3.4.3 Genotipagem para os polimorfismos.....	47
3.4.3.1 Determinação dos polimorfismos 192QR e 55LM no gene da enzima paraoxonase 1 e 311 no gene da enzima paraoxonase 2 (PCR Multiplex).....	47
3.4.3.2 Determinação da alteração PON2-148AG no gene da enzima paraoxonase 2.....	51
3.5. Análise da Atividade Basal de PON1 sérica.....	53
3.6 Avaliação do Perfil Lipídico.....	55
3.6.1 Pacientes.....	55
3.6.2 Portadores de HIV ao diagnóstico.....	57
3.6.3 Indivíduos Saudáveis.....	57
3.7. Determinação dos linfócitos T CD4+, CD8+ e carga viral do grupo de pacientes da Casa da AIDS.....	58

3.8 Reação ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS).....	59
estatística.....	60
3.9 Análise	
4. RESULTADOS.....	62
4.1 Pacientes da Casa da AIDS (PACIENTES).....	63
4.1.1 Níveis séricos de colesterol total, frações de colesterol, triglicérides, contagens de linfócitos T CD4+ e CD8+ e da carga viral no grupo de pacientes avaliados.....	63
4.1.2 Descrição individual da presença dos quatro polimorfismos nos pacientes avaliados.....	64
4.1.3 Descrição da presença dos polimorfismos PON1-192Q/R e PON1-55L/M nos pacientes avaliados.....	65
4.1.4 Determinação da atividade sérica basal da paraoxonase nos pacientes.....	67
4.1.5 Descrição da presença dos polimorfismos PON2-311SC e PON2-148AG nos pacientes avaliados.....	70
4.1.6 Reação ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) no grupo de pacientes.....	72
4.2 Portadores de HIV ao diagnóstico (PORT HIV).....	73
4.2.1 Níveis séricos de colesterol total, frações de colesterol e triglicérides no grupo de portadores de HIV ao diagnóstico avaliados.....	73
4.2.2 Descrição individual da presença dos quatro polimorfismos nos portadores de HIV ao diagnóstico.....	74

4.2.3 Descrição da presença dos polimorfismos PON1-192Q/R e PON1-55L/M nos portadores de HIV ao diagnóstico avaliados.....	75
4.2.4 Determinação da atividade sérica basal da paraoxonase nos portadores de HIV ao diagnóstico.....	77
4.2.5 Descrição da presença dos polimorfismos PON2-311SC e PON2-148AG nos portadores ao diagnóstico avaliados.....	81
4.2.6 Reação ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) no grupo de portadores de HIV ao diagnóstico.....	82
4.3 Indivíduos Saudáveis.....	83
4.3.1 Níveis séricos de colesterol total, frações de colesterol, triglicérides nos indivíduos saudáveis avaliados.....	83
4.3.2 Descrição individual da presença das quatro alterações nos indivíduos saudáveis avaliados.....	84
4.3.3 Descrição da presença do polimorfismo PON1-192Q/R nos indivíduos saudáveis avaliados.....	85
4.3.4 Determinação da atividade sérica da paraoxonase nos indivíduos saudáveis.....	87
4.3.5 Descrição da presença dos polimorfismos PON2-311SC e PON2-148AG nos indivíduos saudáveis avaliados.....	90
4.4 Análise estatística.....	92
4.4.1 Do perfil lipídico dos grupos avaliados.....	92
4.4.2 Da frequência dos genótipos PON1-192 e PON1-55 nos	

grupos avaliados.....	96
4.4.2.1 Polimorfismo PON1-192QR.....	96
4.4.2.2 Polimorfismo PON1-55LM.....	97
4.4.2.3 Combinação de genótipos PON1-192QR e PON1-55LM.....	98
4.4.3 Da atividade enzimática basal de PON1 por grupo estudado.....	101
4.4.4 Da atividade da enzima PON1 por genótipo PON1-192 ou PON1-55 em cada grupo avaliado.....	101
4.4.4.1 Pacientes.....	101
4.4.4.2 Portadores ao diagnóstico.....	103
4.4.4.3 Indivíduos Saudáveis.....	104
4.4.5 Da frequência dos genótipos PON2-311 e PON2-148 nos grupos avaliados.....	105
4.4.5.1 Polimorfismo PON2-311CS.....	105
4.4.5.2 Polimorfismo PON2-148AG.....	106
4.4.6 Do TBARS, linfócitos T CD4+ e da carga viral.....	107
5. DISCUSSÃO.....	113
6. CONCLUSÕES.....	132
7. ANEXOS.....	134
8. REFERÊNCIAS.....	229

LISTA DE ABREVIATURAS

μg	
μL	Microlitro
μM	Micromolar
β-ME	Beta mercaptoetanol
A	Forma abreviada da base purínica adenina
ABCA-1	Do inglês “ATP binding cassette transporter-1”; transportador ABCA-1
ACAT	Do inglês “acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferase”; Acil Co A: colesterol aciltransferase
AIDS	Do inglês “acquired immunodeficiency syndrome”; síndrome da imunodeficiência humana
Ala	Alanina
Apo	Apolipoproteína
Arg	Arginina
C	Forma abreviada da base pirimidínica citosina
CDC	Do inglês “Center of Diseases Control”; Centro de Controle de Doenças
cDNA	DNA complementar
Células/mm ³	Células por milímetro cúbico
CETP	Do inglês “cholesteryl ester transfer protein”; proteína de transferência de colesterol esterificado
Cópias/ ml	Cópias por mililitro
Cys	Cistina
DNA	Do inglês “deoxyribonucleic acid”; ácido desoxirribonucléico

dNTPs	Do inglês “2 deoxynucleoside 5-triphosphate”; desoxirribonucleotídeo trifosfatado (dATP, dCTP, dGTP, DTTP)
dp	Desvio padrão
EDTA	Do inglês “(Ethylenedinitrilo) tetraacetic acid disodium”; Ácido etilenodiaminotetracético
FNU4HI	Enzima de restrição Fnu4H I originada de <i>Fusobacterium nucleatum</i> 4H
FPS/HSP	Fundação Pró-Sangue/ Hemocentro de São Paulo
g	Grama
G	Forma abreviada da base purínica guanina
Gln	Glutamina
GLUT-4	Do inglês “glucose transporter-4”; transportador de glicose Glut-4 dependentes de insulina
Gly	Glicina
GPX	Do inglês “glutathione peroxidase”; glutathione peroxidase
GSHPx-1	Do inglês “selenium-dependent cellular glutathione peroxidase”; glutathione peroxidase dependente de selênio
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HCl	Ácido clorídrico
HDL	Do inglês “high density lipoprotein”; lipoproteína de alta densidade
Hinf I	Enzima de restrição originada de <i>Haemophilus influenzae</i>
HIV	Do inglês “human immunodeficiency virus”; vírus da

imunodeficiência humana

HMG CoA 3-hidroxi-3-metilglutaril Co A redutase

redutase

HTLV-III Do inglês “human T-lymphotropic virus type III”; vírus linfotrópico-T humano do tipo III

ICAM-1 Do inglês “intercellular adhesion molecule-1”; moléculas de adesão intracelular-1

IDL Do inglês “intermediate density lipoprotein”; lipoproteína de densidade intermediária

IL Interleucina

KCl Cloreto de Potássio

LCAT Do inglês “lecithin cholesterol acyltransferase”; lecitina colesterol aciltransferase

LDL Do inglês “low density lipoprotein”; lipoproteína de baixa densidade

LDLr Receptor de LDL

Leu Leucina

LP Lipoproteína(s)

LRP Do inglês “LDL receptor-related protein”; proteína relacionada ao receptor de LDL

M Molar

MDA Malonaldeído

Met Metionina

Mg Miligrama

mg/dL	Miligramas por decilitro
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
ml	Mililitro
Mm	Milímetros
Mmol	Milimolar
mRNA	RNA mensageiro
NaCl	Cloreto de Sódio
NF-κB	Do inglês “nuclear factor kappa B”; fator nuclear kappa B
nmoles/ml	Nanomoles por mililitro
NSREBP	Do inglês “sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs)”; forma nuclear do elemento regulador de esteroide ligado a proteínas
°C	Graus Celsius
PAF-AH	Do inglês “platelet-activating factor acetylhydrolase”; acetil- hidrolase fator ativador de plaquetas
Pb	Pares de bases
PCR	Do inglês “polymerase chain reaction”; reação em cadeia da polimerase
PLTP	Do inglês “phospholipid transfer protein”; proteína transportadora de fosfolípidos
PON	Paraoxonase
Primer(s)	Seqüência(s) de oligonucleotídeo(s) iniciadora(s)
QM	Quilomicrons
RCLB	Do inglês “red cell lysis buffer”; tampão de lise de glóbulos

	vermelhos
RFLP	Do inglês “restriction fragment length polymorphism”; polimorfismo do tamanho do fragmento de restrição
RNA	Do inglês “ribonucleic acid”; ácido ribonucléico
SDS	Sódio Dodecil Sulfato
Ser	Serina
SRB1	Do inglês “scavenger receptors B, class 1”; receptores <i>scavenger</i> do tipo B , classe 1
T	Forma abreviada da base pirimidínica timina
TARV	Terapia antiretroviral
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Do inglês “tiobarbituric acid reation substances”; substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TAE	Tampão tris-acetato
TBE	Tampão tris-borato
TCA	Ácido tricloroacético
TE	Tampão tris-EDTA
TEN	Tampão tris-EDTA-NaCl
TNF- α	Do inglês “tumor necrosis factor α ”; fator de necrose tumoral
Tris	Tris (hidroximetil) aminometano
U	Unidade internacional
U/L	Unidades por litro

VCAM-1	Do inglês “vascular cell adhesion molecule-1”; molécula de adesão celular-1
VLDL	Do inglês “very low density lipoprotein”; lipoproteína de muito baixa densidade
W	Watts

Lista de Figuras

Figura 1 – Etapas da extração inorgânica de DNA.....	44
Figura 2 – DNA genômico obtido a partir de leucócitos de sangue periférico.....	47
Figura 3 – Esquema dos perfis eletroforéticos possíveis para produtos amplificados na detecção dos polimorfismos PON1- 192QR, PON1-55LM, PON2-311SC (multiplex).....	50
Figura 4 – Amplificação por PCR multiplex das alterações PON1- 192QR, PON1-55LM, PON2-311SC.....	51
Figura 5 – Esquema dos perfis eletroforéticos possíveis para PON2- 148AG.....	53
Figura 6 – Pesquisa da mutação PON2-148AG (RFLP) em gel de agarose.....	53

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Valores de referência para as determinações lipídicas (expressos em mg/dL).....	57
Tabela 2 – Valores de referência para contagens de células CD4+ e CD8+, e para a contagem do número de partículas virais (carga viral)	59
Tabela 3 – Parâmetros lipídicos e contagens de células CD4+, CD8+ e da carga viral dos pacientes (valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo).....	64
Tabela 4 – Frequências alélicas observadas nos pacientes para PON1-192R, PON1-192Q, PON1-55L, PON1-55Q, PON2- 311S, PON2-311C, PON2-148A, PON2-148G (n=350).....	65
Tabela 5 – Frequências observadas em pacientes para os possíveis genótipos de PON1-192 e PON1-55 (n=350).....	66
Tabela 6 - Associações de genótipos da PON1-192 e da PON1-55 nos pacientes avaliados (n=350).....	67
Tabela 7 – Atividade da paraoxonase sérica (em U/L) por genótipo PON-192 ou PON1 55 determinada no grupo de pacientes (n=350)	69
Tabela 8 – Atividade da paraoxonase sérica (em U/L) por associação de genótipos PON1-192 e PON1-55 nos pacientes (n=350).....	70
Tabela 9 – Frequências observadas em pacientes para os possíveis genótipos de PON2-311 e PON2-148 (n=350).....	71

Tabela 10 - Resumo das frequências dos genótipos PON1-192, PON1-55, PON1-311 e PON1-148 observados nos 350 pacientes avaliados.....	72
Tabela 11 – Parâmetros lipídicos (valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo) determinados no grupo de portadores de HIV ao diagnóstico (n=32).....	74
Tabela 12– Frequências observadas nos portadores de HIV ao diagnóstico para os alelos PON1-192R, PON1-192Q, PON1-55L, PON1-55M, PON2-311S, PON2-311C, PON2-148A e PON2-148G (n=32).....	75
Tabela 13 – Frequências observadas no grupo de portadores de HIV ao diagnóstico para os possíveis genótipos de PON1-192 e PON1-55 (n=32).....	76
Tabela 14: Associações de genótipos da PON1-192 e da PON1-55 nos portadores de HIV ao diagnóstico avaliados (n=32).....	77
Tabela 15 – Atividade da paraoxonase sérica (em U/L) por genótipos PON-192 ou PON1-55 nos portadores de HIV ao diagnóstico (n=32).....	80
Tabela 16 – Atividade da paraoxonase sérica por associação de genótipos PON1-192 e PON1-55 nos portadores ao diagnóstico (n=32).....	80
Tabela 17 – Frequências observadas em portadores de HIV ao diagnóstico para os possíveis genótipos de PON2-311 e PON2-148 (n=32).....	81

Tabela 18 - Resumo das freqüências dos genótipos PON1-192, PON1-55 PON1-311 e PON1-148 encontrados nos portadores ao diagnóstico avaliados (n=32).....	82
Tabela 19 – Parâmetros lipídicos (valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo) dos indivíduos saudáveis (n=179).....	84
Tabela 20 – Freqüências alélicas observadas em indivíduos saudáveis para PON1-192R, PON1-192Q, PON1-55L, PON1-55M, PON2-311S, PON2-311C, PON2-148A e PON2-148G (n=179).....	85
Tabela 21 – Freqüências observadas nos indivíduos saudáveis para os possíveis genótipos de PON1-192 e PON1-55 (n=179).....	86
Tabela 22: Associações de genótipos de PON1-192QR e de PON1-55LM nos indivíduos saudáveis avaliados (n=179).....	87
Tabela 23 – Atividade da paraoxonase sérica (em U/L) por genótipo PON-192 ou PON1-55 determinada nos indivíduos saudáveis (n=179).....	89
Tabela 24 – Atividade da paraoxonase sérica (em U/L) por associação de genótipos PON1-192 e PON1-55 nos indivíduos saudáveis (n=179).....	90
Tabela 25 – Freqüências observadas em indivíduos saudáveis para os possíveis genótipos de PON2-311 e PON2-148	

(n=179).....	91
Tabela 26 - Resumo das freqüências dos genótipos PON1-192, PON1-55, PON1-311 e PON1-148 encontrados nos indivíduos saudáveis avaliados (n=179).....	92
Tabela 27 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da determinação de colesterol total (em mg/dL) para os grupos avaliados (n=495).....	93
Tabela 28 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da determinação de HDL-colesterol (em mg/dL) para os grupos avaliados (n=492).....	93
Tabela 29 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da determinação de LDL-colesterol (em mg/dL) para os grupos avaliados (n=491).....	94
Tabela 30 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da determinação de VLDL-colesterol (em mg/dL) para os grupos avaliados (n=310).....	95
Tabela 31 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da determinação de triglicérides (em mg/dL) para os grupos avaliados (n=471).....	95
Tabela 32 – Freqüência dos alelos de PON1-192Q e PON1-192R nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561).....	96
Tabela 33 – Freqüência dos possíveis genótipos de PON1-192QR	

nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561).....	97
Tabela 34 – Frequência dos alelos PON1-55L e PON1-55M nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561).....	98
Tabela 35 – Frequência dos possíveis genótipos de PON1-55LM nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561).....	98
Tabela 36 – Combinação de genótipos PON1-192QR e PON1-55LM nos pacientes avaliados (n=350).....	99
Tabela 37 – Combinação de genótipos PON1-192QR e PON1-55LM nos portadores ao diagnóstico avaliados (n=32).....	100
Tabela 38 – Combinação de genótipos PON1-192QR e PON1-55LM nos indivíduos saudáveis avaliados (n=179).....	100
Tabela 39 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da atividade basal de PON1 (em U/L) por grupo avaliado (n=561).....	101
Tabela 40 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da atividade basal de PON1(em U/L) por genótipo PON1-192 ou PON1-55 no grupo de pacientes (n=350).....	102
Tabela 41 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e	

máximo da atividade basal de PON1(em U/L) por genótipo PON1-192 ou PON1-55 no grupo de portadores ao diagnóstico (n=32).....	103
Tabela 42 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da atividade basal de PON1(em U/L) por genótipo PON1-192 ou PON1-55 no grupo de indivíduos saudáveis (n=179).....	104
Tabela 43 – Frequência dos alelos PON2-311C e PON2-311S nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561).....	105
Tabela 44 – Frequência dos possíveis genótipos de PON2-311CS nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561).....	106
Tabela 45 – Frequência dos alelos PON2-148A e PON2-148G nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561).....	106
Tabela 46 – Frequência dos possíveis genótipos de PON2-148AG nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561).....	107
Tabela 47 – Valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e	

máximo do TBARS nos grupos estudados.....	108
Tabela 48 – Valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo da atividade enzimática de PON1 por número de células CD4+.....	109
Tabela 49 – Valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo do TBARS nos genótipos estudados no grupo de pacientes (n=288).....	110
Tabela 50 – Valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo do TBARS nos genótipos estudados no grupo de portadores de HIV ao diagnóstico (n=25).....	111
Tabela 51 - Valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo da contagem de linfócitos T CD4+ nos genótipos estudados dentre o grupo de pacientes (n=348).....	112

Lista de Anexos

Anexo A – Dados gerais sobre os pacientes (sexo, idade e raça), resultados das determinações de colesterol total, frações de colesterol, triglicérides, contagens de CD4+, CD8+ e da carga viral (n=350).....	135
Anexo B – Nome e classe dos medicamentos antiretrovirais (ARV) administrados aos pacientes (n=350) à época da coleta das amostras.....	149
Anexo C – Dados gerais (sexo, idade e raça) e resultados das determinações de colesterol total, frações de colesterol e triglicérides sobre os portadores de HIV ao diagnóstico (n=32).....	163
Anexo D – Dados gerais sobre os indivíduos saudáveis (sexo, idade e raça), resultados das determinações de colesterol total, frações de colesterol e triglicérides (n=179).....	165
Anexo E – Termo de esclarecimento e livre consentimento empregado para os pacientes.....	174
Anexo F - Termo de esclarecimento e livre consentimento empregado para os doadores de sangue que compuseram a população de saudáveis.....	178
Anexo G – Atividade da paraoxonase e detecção das mutações PON1-192Q/R, PON1-55L/M, PON2-311SC e PON2-148AG em pacientes (n=350).....	182
Anexo H – Determinação da atividade da paraoxonase e detecção	

das mutações PON1-192Q/R, PON1-55L/M, PON2-311SC e PON2-148AG na população de portadores de HIV ao diagnóstico (n=32).....	196
Anexo I – Determinação da atividade da paraoxonase e detecção das mutações PON1-192Q/R, PON1-55L/M, PON2-311SC e PON2-148AG na população de doadores estudada (n=179).....	198
Anexo J – Resultados individuais da determinação do TBARS em pacientes (n=288).....	207
Anexo K – Resultados individuais da determinação do TBARS nos portadores de HIV ao diagnóstico (n=25).....	224
Anexo L – Distribuição das frequências alélicas de PON1-192R e PON1-192Q em algumas populações.....	226
Anexo M – Distribuição das frequências alélicas de PON1-55L e PON1-55M em algumas populações.....	228

MASELLI, L.M.F. Estudo dos polimorfismos das paraoxonases 1 e 2 em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana e avaliação do potencial de peroxidação lipídica [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 263p

A paraoxonase sérica humana (PON) vem sendo amplamente estudada. Além da capacidade de PON1 em hidrolisar compostos organofosfatados, sabe-se, atualmente, que toda a família PON (composta por PON1, PON2 e PON3) promove a proteção de lipídeos, incluindo-se a lipoproteína de baixa densidade (LDL) contra a oxidação. O gene da PON1 sérica apresenta dois sítios polimórficos bem determinados: a troca Gln¹⁹²Arg (Q/R) e Met⁵⁵Leu, os quais estão associados com diferenças na atividade e concentrações séricas da enzima, respectivamente. Também o polimorfismo Cys³¹¹Ser parece contribuir sinergisticamente com o alelo PON1-192R quanto ao risco cardiovascular em algumas populações. Já foi demonstrado, por sua vez, que pacientes infectados pelo vírus HIV podem desenvolver dislipidemia e que tanto a atividade como a concentração de PON1 podem ser influenciadas por esta infecção. O objetivo deste estudo foi determinar as frequências alélicas dos polimorfismos genéticos PON1-192QR, PON1-55LM, PON2-311SC e PON2-148AG, bem como avaliar a atividade de PON1 e a peroxidação lipídica no plasma de indivíduos portadores de HIV.

Materiais e Métodos – após aprovação pela comissão de ética e da aplicação do termo de consentimento pós-esclarecido, 350 (264 homens e 86 mulheres) pacientes infectados pelo HIV foram incluídos no estudo. Foi avaliado ainda um grupo de 32 (23 homens e 9 mulheres) indivíduos recentemente diagnosticados como portadores do vírus. Uma população saudável composta por 179 doadores de sangue, todos de sexo masculino, foi avaliada como controle. Após a extração do DNA, procedeu-se à genotipagem para os polimorfismos de PON1 e PON2 através de PCR-RFLP. A atividade paraoxonase de PON1 foi avaliada por espectrofotometria empregando-se paraoxon como substrato. O colesterol total, VLDL-colesterol, HDL-colesterol e triglicérides foram determinados por métodos padrão. A fração LDL-colesterol foi calculada pela fórmula de Friedwald.

Resultados – As frequências alélicas para os polimorfismos de PON1 nos pacientes foram: 36,43% para o alelo PON1-192R, 57,86% para PON1-55L, 65,57% para PON2-311S e 76,43% para o alelo PON2-148A. No grupo de indivíduos recentemente diagnosticados como portadores de HIV estas frequências foram 37,50%, 51,56%, 81,25% e 68,75, respectivamente. No grupo composto pelos saudáveis, a frequência alélica de PON1-192R foi 43,02%, a de PON1-55L foi 68,99%, a do alelo PON2-311S foi 67,60% e, por fim, a frequência do alelo PON2-148A foi 75,14%.

Conclusões – As distribuições alélicas dos polimorfismos em PON1 e PON2 foram similares dentre os portadores de HIV e os controles. A relação entre os genótipos PON1-192QR e/ou PON1-55LM e a atividade de PON1 em pacientes não diferiu daquela observada nos controles. Observou-se ainda, aumento do colesterol, dos triglicérides e da peroxidação lipídica no plasma dos infectados pelo vírus e, nos pacientes, uma maior atividade enzimática

dentre os possuidores de contagem de linfócitos CD4+ acima de 500 células por mm³.

Descritores: polimorfismo genético – frequência do gene – peroxidação de lipídeos – HIV/enzimologia – humanos

Summary

MASELLI, L.M.F. Frequency of the Paraoxonase 1 and 2 genetic polymorphisms and analysis of the lipid peroxidation in plasma of HIV positive patients [thesis]. São Paulo: Faculty of Medicine, University of São Paulo; 2007. 263p

Human serum paraoxonase (PON) has been the subject of a number of studies. Beside the capacity of PON1 in hydrolyzing organophosphate compounds, it is known now that the entire PON family (which comprises PON1, PON2 and PON3) protects lipids, including low-density lipoprotein (LDL), from oxidation. Serum PON1 gene presents two well-determined genetic polymorphic sites: a Gln¹⁹² Arg (Q/R) and Met⁵⁵ Leu, which are associated with differences in enzymatic activity and serum concentrations, respectively. Moreover, PON2 Cys³¹¹ Ser polymorphism seems to contribute synergistically with PON-192R allele to cardiovascular risk in some populations. It has been shown that HIV infected patients may develop dyslipidemia and that PON1 activity and concentration may be influenced by this infection. The aim of this study was to determine allelic frequencies of PON1-192QR, PON1-55LM, PON2-311SC and PON2-148AG genetic polymorphisms, evaluate PON1 activity and lipid peroxidation in plasma of HIV patients.

Methods and Subjects – after ethical committee approval and written consent, 350 (264 men and 86 women) HIV infected patients were included in the study. It was also evaluated a group of 32 recently diagnosed HIV individuals (23 men and 9 women). As controls, a healthy population formed by 179 men, blood donors, was studied. After DNA extraction PON1 and PON2 genotyping were performed by PCR-RFLP. Paraoxonase activity of PON1 was evaluated spectrophotometrically using paraoxon as substrate. Serum cholesterol, VLDL-cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides were analyzed by standard methods. LDL-cholesterol was calculated by Friedewald formula.

Results: Allelic frequencies for PON1 polymorphisms in patients were: 36,43% for PON1-192R, 57,86% for PON1-55L, 65,57% for PON2-311S and 76,43% for PON2-148A. In recently diagnosed individuals these frequencies were 37,50%, 51,56%, 81,25% and 68,75% respectively. In controls, PON1-192R allelic frequency was 43,02%, PON1-55L was 68,99%, PON2-311S was 67,60% and PON2-148A was 75,14%.

Conclusion: Allelic distributions of PON1 and PON2 polymorphisms were similar in HIV patients and controls. The relationship between PON1-192 QR and/or PON1-55LM genotypes and enzyme activity in patients were not different from controls. It was also observed an elevation of cholesterol, tryglicerides and lipid peroxidation levels in plasma of infected patients and, in this group, a higher activity in those which CD4+ cells counting was more than 500 cell/mm³.

Descriptors: genetic polymorphism – gene frequency – lipid peroxidation – HIV/enzymology – humans

1. Introdução

1.1 Lípidos e peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi definida por Tappel como “a deterioração oxidativa de lípidos poliinsaturados”, observando-se que ácidos graxos poliinsaturados são aqueles possuidores de mais de duas ligações carbono-carbono (Haliwell & Gutteridge, 1999).

Estudada em alimentos, principalmente durante os anos 40, a seqüência de reações hoje reconhecidas como participantes da peroxidação lipídica demonstraram sua relevância em sistemas biológicos apenas no final dos anos 50 (Haliwell & Gutteridge, 1999; Niki *et al.*, 2005). Assim, desde a descoberta da enzima oxigenase, em 1955 e independentemente, por Hayaishi *et al.* (1955) e Mason *et al.* (1955), a peroxidação lipídica por lipooxigenases e ciclooxigenases vem sendo amplamente estudada (Niki *et al.*, 2005).

Sabe-se atualmente que os alvos da peroxidação lipídica abrangem membranas lipídicas que circundam células e organelas celulares (como mitocôndrias, lisossomos e peroxisomos), as quais possuem grandes quantidades de cadeias laterais de ácidos graxos poliinsaturados. As membranas lipídicas são, geralmente, moléculas anfipáticas, cujos maiores constituintes são lípidos e proteínas. A quantidade de proteína aumenta conforme o número de funções realizadas pela membrana (Haliwell & Gutteridge, 1999). Particularmente nas membranas celulares animais, há predominância de fosfolípidos e ésteres baseados no glicerol álcool. Também as lipoproteínas envolvidas no processo de digestão, absorção e transporte dos lipídios provenientes da dieta devem ser digeridas,

absorvidas e constituem alvos para o dano oxidativo (Haliwell & Gutteridge, 1999)

Estudos *in vitro* demonstram que a peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados usualmente envolve três processos didaticamente definidos: iniciação, propagação e terminação (Andrade Jr. *et al.*, 2005).

O início da peroxidação lipídica se dá pela ação de um radical livre sobre um lípide de qualquer espécie que possua reatividade suficiente para subtrair um átomo de hidrogênio de um grupo metileno (-CH₂-), formando um dieno conjugado. Ácidos graxos com uma ou nenhuma dupla ligação são mais resistentes a este ataque do que os ácidos graxos poliinsaturados, visto aos últimos estarem presentes em diversas membranas e lipoproteínas (Haliwell & Gutteridge, 1999; Andrade Jr. *et al.*, 2005). Um único evento de inicialização pode promover à formação de múltiplas moléculas de peróxido como resultado da cadeia de reação.

A propagação se dá quando o radical carbono formado reage com O₂ molecular, com formação do radical hidroperóxido, que subtrai hidrogênio de outras moléculas de lipídio, resultando no hidroperóxido lipídico. Isto permite que a peroxidação de lípidos continue. Com a ajuda de metais catalíticos, como ferro e cobre, a decomposição dos hidroperóxidos resulta na geração de radicais peroxil e alcoxil, os quais podem iniciar uma reação em cadeia e propagar a peroxidação lipídica (Andrade Jr. *et al.*, 2005). Estes radicais, bem como aldeídos e outros produtos da peroxidação lipídica podem causar sérios danos às proteínas presentes.

A peroxidação lipídica é a maior fonte de produtos citotóxicos, como os aldeídos, produzidos pela decomposição de hidroperóxidos. Os principais ácidos graxos que sofrem peroxidação lipídica na célula são o linoleico, o araquidônico, e o docosahexanóico, além de outros ácidos graxos poliinsaturados (Andrade Jr. *et al.*, 2005).

O colesterol de membranas celulares e lipoproteínas também pode ser oxidado durante a peroxidação lipídica, gerando uma mistura de produtos, cuja citotoxicidade deve ser determinada individualmente (Haliwell & Gutteridge, 1999).

Os produtos da oxidação do colesterol, comumente denominados oxisteróis, vem recebendo atenção como biomarcadores de estresse oxidativo, como intermediários na biosíntese da ácidos biliares e como mensageiros para sinalização celular e transporte do colesterol (Diczfalusy., 2004). O colesterol pode ser oxidado tanto por mecanismos enzimáticos como não enzimáticos (Niki *et al.*, 2005) e os oxisteróis estão presentes *in vivo* sob diferentes formas, denominadas como esterificada, sulfatada e formas conjugadas, bem como oxisteróis livres (Brown & Jessup, 1999).

Deste modo, é conhecido atualmente que a peroxidação lipídica gera produtos complexos, como aldeídos e materiais poliméricos, os quais exercem efeitos citotóxicos e genotóxicos (Esterbauer, 1993). O estresse oxidativo que excede a capacidade anti-oxidante pode induzir ao dano oxidativo, enquanto níveis baixos de estresse podem potencializar a capacidade de defesa. Esta resposta adaptativa pode ser observada em diversas situações, como em baixas doses de irradiação (Mathers *et al.*,

2004). Mais ainda, os produtos da peroxidação lipídica, bem como proteínas modificadas são encontradas em lesões ateroscleróticas humanas e oxisteróis, estão envolvidos na regulação da expressão gênica, no metabolismo do colesterol e na homeostase (Repa & Mangelsdorf, 2002; Nishimura *et al.*, 2005).

1.1.1 Lipoproteínas

Classificadas em quatro grupos, conforme sua densidade – quilomicrons (QM), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) e lipoproteína de alta densidade (HDL) – são formadas por uma monocamada de lípides anfipáticos (fosfolípidos e colesterol) envolvendo um núcleo de lípidos não polares (triglicerídeos e éster de colesterol). Ancoradas à monocamada estão as apolipoproteínas (apos) que exercem várias ações sobre o metabolismo das lipoproteínas.

A VLDL é responsável pelo transporte dos triglicerídeos do fígado para os tecidos extra-hepáticos, é sintetizada por células do parênquima hepático e possui apo B-100. Na circulação, por transferência da HDL, recebe apo C e apo E. Com ação da lipase lipoprotéica, ocorre hidrólise dos triglicerídeos contidos na VLDL e conseqüente liberação de glicerol, ácidos graxos e apo C. A lipoproteína assim resultante denomina-se “remanescente” de VLDL ou lipoproteína de densidade intermediária (IDL), a qual pode ser removida pelo fígado via receptores de LDL (LDLr) ou permanecer na circulação e ser posteriormente transformada, através de lipólise, em lipoproteína de baixa densidade (LDL).

A densidade da LDL corresponde a 1,019 - 1,063 g/ml e a apo B-100, sua apoproteína estrutural, encontra-se ancorada na monocamada lipídica. Sob condições normais, a LDL carrega aproximadamente 2/3 do colesterol total presente no plasma e apresenta meia vida plasmática de cerca de dois dias. O principal órgão responsável pela remoção da LDL do plasma é o fígado e em tecidos extra-hepáticos, a LDL fornece o colesterol necessário à síntese de hormônios esteróides, no córtex adrenal e gônadas, assim como o da síntese de membranas celulares (Brown *et al.*, 1981).

A captação da LDL pelo fígado e por outros tecidos ocorre via interação com receptores (LDLr), interação esta que se desfaz por diminuição de pH e possibilita, assim, o retorno deste receptor à superfície celular. Intracelularmente, há hidrólise do éster de colesterol pela lipase ácida, o que promove a liberação do colesterol livre à ser empregado no metabolismo celular (Goldstein *et al.*, 1979).

A quantidade de colesterol intracelular é quem controla a ação de receptores de alta afinidade pela LDL: em altas concentrações de colesterol na célula, há redução da atividade de 3-hidroxi-3-metilglutaril Co A redutase (HMG CoA redutase), enzima que catalisa a etapa chave da biossíntese de colesterol. Há também menor expressão dos LDLr e, por fim, o excesso de colesterol intracelular ativa outra enzima, a acil Co A: colesterol aciltransferase (ACAT), a qual esterifica o colesterol (Bilheimer, 1988). O aumento de expressão dos LDLr e da atividade da HMG CoA redutase se dá, por sua vez, quando as células estão privadas de colesterol, em

regulação retroativa. Este mecanismo constitui o principal fator para o controle da concentração plasmática de LDL (Brown & Goldstein, 1990).

Por sua vez, a HDL consiste na menor e mais densa (1,063 a 1,25 g/ml) fração das lipoproteínas plasmáticas. Estruturalmente é constituída por um núcleo lipídico hidrofóbico e que contém majoritariamente ésteres de colesterol, além de pequena quantidade de triacilgliceróis e colesterol não esterificado. O núcleo é circundado por camada monofásica de fosfolipídios, colesterol não esterificado e apolipoproteínas, principalmente apo-A1 (HDL-A1) ou apo-A1 mais apo-A2 (HDL-A1/A-2) (Lima & Couto, 2006). As principais subclasses desta lipoproteína, baseadas no tamanho, são: HDL nascente (ou pré- β -HDL), HDL₃ (a menor e mais densa) e HDL₂ (a maior e menos densa) (Tulenکو & Sumner, 2002). Diversas funções são atribuídas à HDL, sendo sua habilidade em promover o efluxo do colesterol das células a mais conhecida. O transporte reverso do colesterol consiste, assim, na via pela qual o excesso de colesterol nos tecidos periféricos é transferido, através do plasma, para o fígado, sendo então excretado pela bile ou incorporado na VLDL (Ansell *et al.*, 2005). Consiste na única via pela qual há eliminação do colesterol de tecidos extra-hepáticos, evitando seu acúmulo. Nele, a HDL₃ recebe de modo progressivo o colesterol esterificado das células periféricas ou de QM, VLDL e LDL, aumentando seu diâmetro, diminuindo sua densidade e se transformando, assim, em HDL₂. Através da proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP) há a transferência da maior parte deste colesterol esterificado para as LP contentoras de apo-B (QM, VLDL e LDL), trocando-as por seus

triacilgliceróis e caracterizando, assim, a via indireta (responsável por cerca de 70% do transporte reverso). A via direta se dá pela ação hidrolítica da lipoproteína lipase hepática, na circulação do órgão, sobre os triacilgliceróis e fosfolipídios da fração HDL₂ e da interação desta fração com os receptores SRB1, regenerando a HDL₃, fração mais abundante da HDL no plasma humano (Tulenکو & Sumner, 2002). A HDL, apresenta, ainda, propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antitrombóticas (Ansell *et al.*, 2005). É relatado que a HDL pode tanto moderar como potencializar a inflamação no processo de aterogênese e que suas funções anti-inflamatórias incluem limitar a peroxidação lipídica, influenciar a expressão de citocinas, modular o recrutamento/adesão de monócitos e alterar aspectos da função endotelial (Ansell *et al.*, 2005; Nofer *et al.*, 2002). Paradoxalmente, as partículas de HDL podem também assumir características pró-inflamatórias e pró-aterogênicas, especialmente na presença de resposta inflamatória de fase aguda ou crônica sistêmica (Ansell *et al.*, 2005). A HDL serve também como transportador plasmático adequado para diversas proteínas participantes do metabolismo lipídico, como a proteína transportadora de éster de colesterol (CETP), lecitina colesterol aciltransferase (LCAT), proteína transportadora de fosfolipídios (PLTP), paraoxonase, entre outras (Lima & Couto, 2006; Wang & Briggs, 2004).

1.2 Paraoxonases

A paraoxonase (PON) é uma família multigene de enzimas - a qual inclui PON1, PON2 e PON3 - localizados no braço longo do cromossomo 7 (entre q21.3 e q22.1) em humanos e no cromossomo 6 de ratos (Primo-Parmo *et al.*, 1996). Os genes PON são similares, apresentando grande homologia estrutural, aparentemente tendo sido originados pela duplicação gênica de um precursor evolucionário comum e possuindo nove exons, oito introns e promotores TATA-less (Draganov *et al.*, 2000; Campo *et al.*, 2004). Em humanos, PON1, PON2 e PON3 possuem aproximadamente 60% de identidade em aminoácidos e cerca de 70% de identidade em nucleotídeos (Campo *et al.*, 2004). Entretanto, cDNAs de PON2 e PON3 seqüenciados não possuem três resíduos de nucleotídeos no códon 106, os quais são presentes em PON1 (Rosenblat *et al.*, 2003). Entre as espécies de mamíferos, cada um dos três genes apresenta 79-90% de identidade em aminoácidos e 81-91% de identidade em nucleotídeos (Primo-Parmo *et al.*, 1996; La Du *et al.*, 1999). PON1, primeira a ser descoberta e mais estudada, foi descoberta através de sua capacidade em hidrolisar organofosfatos xenobióticos no soro humano. PON2 e PON3, mais recentemente identificadas, ainda apresentam suas funções apenas superficialmente especuladas (Mackness *et al.*, 2004).

Faz-se ainda necessário estabelecer a atuação de cada um destes três produtos gênicos na fisiologia e patologia humanas, bem como determinar-se a(s) verdadeira(s) função (ões) fisiológica(s) desta família de enzimas (Li *et al.*, 2003).

1.2.1 PARAOXONASE 1

Em 1946, Abraham Mazur propôs a presença de uma enzima presente em tecido animal, a qual era capaz de hidrolisar compostos organofosfatos. Este achado conduziu à descoberta da enzima PON1 no início dos anos 50, quando Aldridge classificou as esterases em dois grupos, A e B (Aldridge, 1953) baseado em suas interações com compostos organofosforados (Mackness *et al.*, 1991a). Sabe-se hoje que estas duas atividades propostas pertencem à uma mesma enzima, PON1 (Sorenson *et al.*, 1995), cujo nome deriva de paraoxon, o metabólito do pesticida parathion. Os maiores níveis de atividade da enzima, em todos os órgãos, foram observados em mamíferos, enquanto que pássaros, peixes e insetos possuem pouca ou nenhuma atividade enzimática (Mackness *et al.*, 1991a).

A PON1, descoberta inicialmente como fator protetor contra agentes neurotóxicos do grupo dos organofosfatos e outros ésteres orgânicos (ésteres de ácido carboxílico aromático e carbamatos), é uma enzima presente no soro, fortemente associada com a apoA-I integrante da HDL e que possui o papel fisiológico principal de proteger a LDL contra modificações oxidativas (Aviram *et al.*, 1998a; Aviram, 1999). O interesse científico pela enzima aumentou imediatamente, quando, em 1991, Mackness *et al.* (1991b) demonstraram que PON1 poderia prevenir o acúmulo de lipoperóxidos na LDL, correlacionando-a, assim, com a doença cardiovascular.

Em humanos, possui uma massa molecular de 43 a 45 kDa, contendo três cadeias de carboidrato que correspondem a 15,8% de seu peso

(Mackness *et al.*, 1998). É uma glicoproteína com atividade de esterase, aparentemente sintetizada e secretada pelo fígado e completamente dependente de cálcio para sua ação hidrolítica contra substratos organofosfato (Campo *et al.*, 2004; Durrington *et al.*, 2001; Aviram *et al.*, 2005a; Aviram *et al.*, 2005b). Sabe-se que a atividade de PON1 é irreversivelmente abolida pelo EDTA e que outros cátions como bário, cobre, zinco, mercúrio e lantânio já demonstraram inibir a atividade de PON1 em ratos ou fígado humano (Gonzalvo *et al.*, 1997). No caso do mercúrio e do cobre, estudos sugerem que o alvo molecular seja um grupo tiol livre na Cys 284 (Gonzalvo *et al.*, 1997; Debord *et al.*, 2003). Zinco, cádmio, ferro e mercúrio são relatados como os mais potentes inibidores *in vitro* da atividade de uma isoforma de PON1 (R), promovendo até 80% de inibição (Cole *et al.*, 2002). Estes efeitos, entretanto, não se reproduziram *in vivo*, provavelmente pela ação suficiente das proteínas plasmáticas ligantes de metal em proteger PON1 contra a inibição por estes metais (Cole *et al.*, 2002).

Recentemente, a cristalografia de uma variante recombinante de PON foi determinada, permitindo-lhe ser a primeira proteína associada à HDL a ter seu formato tridimensional elucidado (Harel *et al.*, 2004; Van Himbergen *et al.*, 2006) e auxiliando as análises de seu modo de ligação à esta lipoproteína e seu papel fisiológico (Aviram *et al.*, 2005a; Aviram *et al.*, 2005b). Sabe-se agora que o centro da enzima apresenta dois átomos de cálcio, um necessário para a atividade catalítica e outro para a estabilização da estrutura (Harel *et al.*, 2004). O modelo empregado indica, ainda, que PON1 seria uma enzima ativada de modo interfacial e que partículas de HDL

possuidoras de apo-A1 ligam-se a PON1 com maior afinidade, promovendo melhor estabilização da enzima (mais de 100 vezes), além de estimularem sua atividade lipolactonase (Gaidukov *et al.*, 2006). A subclasse HDL₃ é carreadora da maior atividade de PON1, observando-se que quanto maior a densidade da fração de HDL, maior a atividade de PON1. A atividade de PON1 na HDL₂ corresponde a apenas 1/25 vezes da detectada na HDL₃ (Bergmeier *et al.*, 2004). Entretanto, a presença da enzima também já foi detectada na VLDL e em QM pós-prandiais (Furhman *et al.*, 2005).

Empregando-se PON1 purificada, foi demonstrado que o cálcio não seria necessário na prevenção do acúmulo de peróxidos lipídicos e que um grupo cisteína no aminoácido 284, seria essencial para a proteção contra a oxidação da LDL, mas não para a hidrólise de organofosfatos (Durrington *et al.*, 2001), sugerindo a possível existência de mudanças conformacionais no sítio ativo da PON1 permitindo alternar estas duas funções, ou ainda, a existência de 2 sítios ativos: um sítio antioxidante (dependente de Cis 284) e um sítio para a hidrólise de organofosfato (dependente de cálcio) (Aviram *et al.*, 1998b; Durrington *et al.*, 2001). Recentemente foi sugerido que a atividade hidrolítica contra lactonas (ésteres cíclicos) constitua a atividade nativa de PON1. Estudos sobre sua atividade e estrutura demonstram que as lactonas são o substrato preferido para hidrólise pela enzima (Khersonsky & Tawfik, 2005). Mais ainda, todos os membros da família de enzimas PON apresentam atividade lactonase, implicando que esta atividade tenha sido conservada durante a evolução da enzima (Draganov *et al.*, 2005). O desequilíbrio da atividade lactonase de PON1, através de mutações em sua

díade catalítica (Khersonsky & Tawfik, 2006), reduz sua habilidade em prevenir a oxidação da LDL e estimula o efluxo de colesterol dos macrófagos, indicando que as funções potencialmente aterogênicas de PON1 são mediadas pela atividade lipolactonase (Rosenblat *et al.*, 2006b). Assim, as atividades paraoxonase e arilesterase seriam meramente promíscuas e pouco afetadas pela ligação à HDL (Gaidukov & Tawfik, 2005).

1.2.1.1 PON1 e HDL

A ação da PON1 sérica se dá, muito provavelmente, pelo envolvimento da enzima no transporte reverso do colesterol, uma propriedade antiaterogênica bem estabelecida da HDL (Noto *et al.*, 2001). Isto inibe a oxidação da LDL e reduz de modo significativo a enzima peroxidase lipídica, o que, por sua vez, diminui o acúmulo de colesterol nos tecidos periféricos (Mackness *et al.*, 1993). Sabe-se que a modificação oxidativa da LDL na parede arterial tem papel central na patogênese da aterosclerose (Mackness *et al.*, 1999), a qual se caracteriza pela deposição de lipídios, formando placas que causam o estreitamento dos vasos sanguíneos (Champe & Harvey, 1996).

É conhecido que a inibição da oxidação da LDL pela HDL é atribuída pelo alto conteúdo de antioxidantes nesta lipoproteína, pelas propriedades antioxidativas da apoA-I e pela presença de muitas enzimas, como a PON, a acetil-hidrolase fator ativador de plaquetas (PAF-AH) e glutathione peroxidase (GPX), enzimas estas que previnem a formação ou degradam produtos bioativos da oxidação da LDL (Assman & Nofer, 2003). Já foram relatadas

várias funções antioxidativas para a PON, ligada à HDL, as quais incluem inibir a geração induzida por cobre de peróxidos lipídicos na LDL, catalisar a quebra dos fosfolipídios oxidados na LDL, a atividade fosfolipase *A₂-like* que hidrolisa fosfolipídios oxidados biologicamente ativos (Li *et al.*, 2003, Assman & Nofer, 2003; Watson *et al.*, 1995). Também já foi reportado um papel peroxidativo (*peroxidase-like*) para a PON, dado a sua capacidade de inibir a oxidação também da HDL, preservando assim suas funções antiaterogênicas e a habilidade para eliminar oxidantes potentes (como os hidroperóxidos e o peróxido de hidrogênio), os quais estão envolvidos na aterosclerose (Li *et al.*, 2003, Aviram *et al.*, 1998a).

Sendo o acúmulo de colesterol e a formação de células espumosas, marcadores da aterosclerose recente, macrófagos de camundongos *knock-out* para PON1, de camundongos transgênicos para PON1, bem como células transfectadas com PON1 foram estudados visando investigar-se a contribuição da enzima na diminuição da formação de células espumosas de macrófagos (Aviram & Rosenblat, 2004; Rozenberg *et al.*, 2003a). Observou-se que a PON1 inibe o influxo de colesterol através da redução da formação de LDL oxidada (inibindo a liberação pelos macrófagos do ânion superóxido e sua conseqüente oxidação da LDL mediada por células), do aumento da quebra de lípidos oxidados específicos na LDL oxidada e pela diminuição da captação, pelos macrófagos, da LDL oxidada (Aviram & Rosenblat, 2004; Rozenberg *et al.*, 2003a). Também já foi relatado que a enzima, associada à HDL, pode estimular o efluxo de colesterol mediado pela HDL em macrófagos, através da proteína de membrana transportadora A1 da família

de ligação de ATP, efeitos estes que poderiam estar relacionados à capacidade de PON1 de induzir a formação de lisofosfatidilcolina nestas células (Rozenberg *et al.*, 2003b; Rosenblat *et al.*, 2005). A lisofosfatidilcolina, a qual origina-se a partir de lipoproteínas contentoras de fosfatidilcolina (como resultado da ativação endógena da fosfolipase A2) e da fosfatidilcolina derivada da membrana celular (como resultado de sua hidrólise pela fosfolipase A2 secretória), parece também inibir a biosíntese de colesterol em macrófagos (Rozenberg *et al.*, 2003b; Rosenblat *et al.*, 2006a).

Estes achados reforçam a função antiaterogênica e de redução do estresse oxidativo sérico da enzima PON1.

1.2.1.2 Polimorfismos de PON1 e atividade enzimática

Mais de 160 polimorfismos já foram descritos neste gene, alguns em regiões codificadoras, outros em introns e regiões reguladoras, necessitando serem melhor caracterizados e afetando, provavelmente, a eficiência de *splicing*, a estabilidade do mensageiro ou a eficiência da poliadenilação (Costa *et al.*, 2005).

Entretanto, a base molecular dos polimorfismos na atividade da PON1 baseia-se em uma mutação *missense* que faz com que sua atividade seja parcialmente determinada de modo genético: uma substituição de aminoácido na posição 192, onde há a troca de uma glicina (Q) por uma arginina (R) (A/G: Gln/Arg), origina duas aloenzimas cujas atividades relativas são substrato dependentes (Costa *et al.*, 2005). Assim, substratos

como paroxon e fenitroxon, organofosfatos amplamente empregados como inseticidas, são hidrolisados mais rapidamente pela aloenzima R, outros, como o fenilacetato, são hidrolisados igualmente por ambas e outros ainda, como diazoxon e gases nervosos como soman e sarin são mais rapidamente hidrolisados pela aloenzima Q. Esta última, a isoforma PON1-Q, *in vitro*, promove melhor proteção da LDL contra o acúmulo de peróxidos lipídicos (Mackness *et al.*, 2003); por sua vez, o alelo R parece constituir fator de risco independente para doença coronariana justamente dada à essa menor capacidade antioxidativa. Experimentos empregando camundongos *PON1 knock-out* já demonstraram uma maior susceptibilidade à toxicidade por organofosfatos, bem como à aterosclerose produzida por dieta aterogênica nestes animais (Draganov *et al.*, 2000).

O gene da PON1 possui ainda um segundo polimorfismo exônico, em sua posição 55, onde há a troca de um aminoácido leucina (L) por metionina (M) (T/A: Leu/Met), o qual também afeta, menos intensamente e de modo independente quanto ao primeiro polimorfismo, a atividade da enzima no plasma (Mackness *et al.*, 2003; Mackness *et al.*, 2000). A presença do alelo PON1_{m55} está associada, assim, à alteração nas concentrações séricas e à baixa eficiência da PON1 plasmática (Costa *et al.*, 2005). A possibilidade deste polimorfismo ser fator genético de risco para a doença cardiovascular foi colocada por Garin *et al.* (1997) ao relatarem que a homozigose para o alelo Leu55 foi fator de risco independente para doença cardiovascular em pacientes com diabetes.

O alelo R no gene da PON-1 parece ser mais freqüente na África Central, em alguns aborígenes ou regiões isoladas, enquanto que o alelo Q parece ser mais freqüente em regiões temperadas da Europa e da América do Norte, entretanto, também aqui maiores estudos seriam necessários para determinar se esta distribuição estaria relacionada com migrações populacionais, influências climáticas, bem como com fatores ambientais (Draganov *et al.*, 2000).

Uma pesquisa, realizada em turcos, sugeriu que a atividade principal da enzima seria mais alta nesta população do que em populações do Norte e do meio da Europa e mais baixa que no extremo Leste (Ayanacioglu *et al.*, 1999). Um único estudo realizado em euro e afro-brasileiros revelou distribuições distintas para a PON1 entre a população de caucasianos, afro-americanos e asiáticos analisados (Allebrandt *et al.*, 2002). Em 2003, uma pesquisa sobre a distribuição mundial do polimorfismo 192 na PON1 também apresentou o alelo R como o de maior freqüência na maioria das populações estudadas, inferindo, por este motivo, que talvez este seria o alelo ancestral. Neste estudo, o alelo Q apresentou freqüência mais alta apenas em Europeus e Índios Asiáticos, sem contudo, ser possível justificar esta distribuição alélica (Scacchi *et al.*, 2003).

A atividade da PON1 está presente já em recém-nascidos, atingindo os níveis encontrados em adultos a partir de 1 ano de vida. Estes níveis parecem se manter constantes por toda a vida (Mackness *et al.*, 1998), não tendo sido relatadas diferenças de atividade da PON1 entre os sexos. Entretanto, já foi relatado que a atividade enzimática da PON varia de 10 a

40 vezes entre populações com diferentes formações étnicas, bem como apresenta-se diminuída em pacientes portadores de certas doenças (infarto do miocárdio, diabetes, hipercolesterolemia familiar, derrame, doença coronariana, cirrose hepática, doença renal, entre outras), podendo caracterizar, inclusive, fator de risco, apesar de dados ainda conflitantes (Li *et al.*, 2003; Mackness *et al.*, 2003; Ayanacioglu *et al.*, 1999). A atividade da PON pode também ser diminuída por tabagismo, gravidez, menopausa, dieta aterogênica, e aumentada pela ingestão moderada de álcool, polifênis e de vitaminas C e E (Van der Gaag *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2003). Um estudo recente também relata diminuição das atividades paraoxonase e arilesterase em trabalhadores de radiologia expostos por mais de cinco anos à radiação ionizante (Costa *et al.*, 2005).

1.2.2 PARAOXONASE 2

Ainda são escassas as informações obtidas nos estudos sobre a PON2. Mochizuki *et al.* (1998) identificaram diversas formas de RNA mensageiro (mRNA) do gene da PON2 produzidas por *splicing* alternativo ou pelo uso de um segundo sítio de início de transcrição. Desta mesma maneira, também caracterizaram dois polimorfismos na sequência codificadora do gene: Arg148Gly e Cys311 Ser.

Sabe-se hoje que o RNA mensageiro da PON2 é amplamente expresso em diversos tecidos humanos, incluindo coração, cérebro, fígado, rim, pulmão, testículos, placenta, (Campo *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2003). Apesar de ausente no plasma, a enzima PON2 parece possuir propriedades

antioxidantes similares à PON1. Entretanto, seu substrato *in vivo* ainda não foi identificado (Campo *et al.*, 2004). Já foi relatado que a PON2 é capaz de diminuir o estresse oxidativo intracelular e de prevenir a oxidação da LDL mediada por células (Li *et al.*, 2003). Células que expressam PON2 em excesso são menos capacitadas para oxidar LDL e apresentam um menor estresse oxidativo intracelular quando expostas à fosfolípidos oxidados ou peróxido de hidrogênio. Também já foi demonstrado que o estresse oxidativo inativa a PON1 sérica enquanto a expressão de PON2 por macrófagos aumenta nesta situação (Nguyen & Sok, 2003). Rosenblat *et al.* (2003) demonstraram a presença de PON2 e PON3 em macrófagos murinos e que, sob estresse oxidativo, as quantidades de mRNA de PON2, bem como sua atividade se elevam de maneira significativa (Rosenblat *et al.*, 2003).

Assim, dado a sua distribuição dar-se não só em células, mas também em diversos tecidos, a PON2 parece atuar na redução do estresse oxidativo intracelular ou no estresse oxidativo localizado (Li *et al.*, 2003; Aviram & Rosenblat, 2004; Oliveira *et al.*, 2004).

1.2.2.1 ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES DA PON1 E PON2

Um polimorfismo comum, que ocorre no códon 311 no gene da PON2, caracterizado pela troca do aminoácido cistina (C) por serina (S) (G/A: Cis/Ser), parece interagir com o alelo PON1-192R sendo, assim, fator de risco para doença coronariana (Sanghera *et al.*, 1998). Por outro lado, em estudo realizado por Leus *et al.* (2001), observou-se que o risco para doença

coronariana associado ao alelo PON2 Ser311 estaria confinado aos indivíduos portadores do genótipo PON1 Leu/Leu 55/ Gln/Gln 192/ PON2 Ser/Ser 311. Ao avaliarem-se populações afro-americana, caucasianos e asiáticos, não foram observadas diferenças na frequência alélica da PON2 para esta mutação (Chan *et al.*, 2000); este mesmo trabalho encontrou diferença nas frequências para a mutação PON1 L55M em asiáticos canadenses e para PON1 Q192R em caucasianos canadenses, sendo os genótipos L55 e Q192 mais comuns em caucasianos (Chan *et al.*, 2000).

Um segundo polimorfismo no gene da PON2, caracterizado pela troca de um nucleotídeo adenina por guanina no codon 148 também vem sendo estudado quanto à *diabetes mellitus* não dependente de insulina (tipo 2) (Hegele *et al.*, 1997), sendo que a homozigose para esta mutação parece acelerar a hiperglicemia em portadores deste tipo de diabetes. Existem evidências de que alterações na glicose plasmática sejam fator predisponente para diversas anormalidades, como o aumento de triglicerídeos plasmáticos, o decréscimo da concentração de HDL, aumento da pressão sangüínea, hiperuricemia e a redução da densidade das partículas de LDL - situações onde há aumento da oxidação lipídica - os quais constituem fator de risco para aterosclerose e doença coronariana (Li *et al.*, 2003).

1.2.3 PARAOXONASE 3

O produto do gene da PON3 é uma glicoproteína de 40-kDa com atividade esterase dependente de cálcio, a qual hidrolisa uma grande

variedade de substratos incluindo arilésteres e lactonas (Lu *et al.* 2006). PON3, como PON1, encontra-se associada à fração de HDL e ausente na LDL, e seu sítio primário de expressão parece ser o fígado, apesar de já terem sido detectadas quantidades significativas do mRNA da PON3 no rim (Campo *et al.*, 2004). Assim como PON1, PON3 também apresenta três resíduos de cisteína – Cis-41, Cis-284 e Cis-351 – e possui propriedades semelhantes na estrutura e atividade (Lu *et al.* 2006). Até o momento, a enzima PON3 não foi purificada e caracterizada em tecido humano, seu substrato natural ainda é desconhecido e não existem relatos sobre polimorfismos nas seqüências codificadoras do gene (Campo *et al.*, 2004; Aviram & Rosenblat, 2004, Lu *et al.* 2006). A aparente função desta glicoproteína seria fornecer uma ateroproteção constitutiva basal, sendo necessários maiores estudos *in vivo* visando determinar se a sua atividade estaria envolvida na prevenção da aterosclerose (Li *et al.*, 2003). Draganov *et al.* (2000) demonstraram que a PON3 sérica de coelho também está fortemente associada à fração HDL, apresentando ação lactonase e sendo cerca de 100 vezes mais eficaz que a PON1 de coelho na proteção da LDL contra a oxidação induzida por cobre. Também reportaram que PON1 é 200 vezes mais abundante que PON3, mas a contribuição total de PON1 à atividade lactonase em coelhos é menor que 1% durante a purificação de PON1 e PON3 a partir de soro de coelho (Draganov *et al.*, 2000). Sob estresse oxidativo, a expressão de PON1 é diminuída enquanto a expressão de PON3 permanece inalterada (Reddy *et al.*, 2001). Em contraste com PON1, PON3 apresenta atividade arilesterase muito limitada e nenhuma

atividade paraoxonase, apesar de hidrolisar rapidamente lactonas (Aviram & Rosenblat, 2004) e de sua atividade protetora contra a oxidação da LDL – induzida por cobre – ser melhor do que a relatada para a proteína PON1 (Esparragon *et al.*, 2006). Lu *et al.* (2006) recentemente relataram a clonagem, expressão, remodelamento e purificação de PON3 empregando *Escherichia coli*. Demonstraram, que esta PON3 remodelada possuía atividade antioxidante eficaz para a proteção da LDL contra oxidação induzida por cobre. Camundongos deficientes de apo E, submetidos a estresse oxidativo, mostraram redução das atividades de PON1 e PON3 (25-45%) comparados à camundongos controle, também confirmando sua ação antioxidativa (Aviram & Rosenblat, 2004).

1.3 Lípidos e o Processo Infecioso

As alterações no metabolismo lipídico decorrentes das infecções podem refletir a gravidade, duração da doença e seu estágio, variando conforme o agente etiológico. Desta forma, observa-se nas infecções por parasitas, vírus e bactérias, diminuição nos níveis de colesterol sérico, bem como hiperlipidemia associada ao acúmulo de triglicerídeos, acúmulo este dado ao aumento da VLDL (Shor-Posner *et al.*, 1993; Grunfeld *et al.*, 1992). O aumento dos níveis plasmáticos de triglicerídeos observados no processo infeccioso dá-se através da redução do *clearance* das lipoproteínas circulantes, processo resultante da diminuição da lipoproteína lipase, ou ainda pelo estímulo da síntese de lipídios hepáticos pelo aumento da síntese

de ácidos graxos hepáticos ou da reesterificação dos ácidos graxos provenientes da lipólise (Grunfeld *et al.*, 1992).

É conhecido que as LP, particularmente a HDL, apresentam propriedades adicionais que poderiam influenciar o curso das infecções (Grunfeld *et al.*, 1992). Além de sua ação principal no transporte reverso do colesterol (Noto *et al.*, 2001), a HDL é relatada como colaboradora em um sistema imune inato não-específico ao exercer ação antioxidante, resultado de sua associação com as enzimas paraoxonase, LCAT e glutathione selenoperoxidase (GPX) (Mackness *et al.*, 1993; Mackness *et al.*, 1999; Alonso-Villaverde *et al.*, 2003). Sabe-se também que a HDL modula diretamente as citocinas inflamatórias, aumentando interleucina (IL)-2 sem a indução de fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e que pode, ainda, inibir a expressão de moléculas de adesão induzida por citocinas, como acontece com as moléculas de adesão celular-1 (VCAM-1) e intracelular (ICAM-1), bem como E-selectina (Alonso-Villaverde *et al.*, 2003). Em adição, sabe-se que o metabolismo lipídico da membrana celular é modulado pelo efluxo de colesterol da membrana das células plasmáticas através das partículas de HDL (Aviram *et al.*, 1998a) e que a apo-A1, maior componente protéico desta LP sérica, consegue inibir a fusão celular induzida pelo vírus *herpes simplex* (Alonso-Villaverde *et al.*, 2003).

Por outro lado, as modificações na LDL, passíveis de ocorrer em diversos processos patológicos, incluem metilação, acetilação e mais comumente, alterações geradas por estresse oxidativo. As alterações induzidas por oxidação, associadas à mudanças enzimáticas subsequentes

resultam em uma partícula de LDL completamente degradada (Noto *et al.*, 2001; Mackness *et al.*, 1993), porém biologicamente ativa, cujos efeitos estendem-se à indução de apoptose, bem como à produção de citocinas com propriedade vasoativas para estímulo e indução de resposta imune (Ronchini *et al.*, 2004). A presença de LDL modificada está associada ao desenvolvimento de patologias como aterosclerose e artrite reumatóide, bem como a fatores predisponentes à doença coronariana isquêmica (Ronchini *et al.*, 2004). Mais ainda, estudos recentes sugerem a existência de pelo menos duas classes funcionais de anticorpos anti-LDL modificada, os quais podem induzir e propagar a doença ou serem protetores, através da remoção ou neutralização desta LDL modificada e potencialmente nociva (Ronchini *et al.*, 2004).

Como ilustrado, a família de enzimas paraoxonase e especialmente PON1, a mais estudada, apresenta importante ação na prevenção de processos oxidativos em lípides, principalmente da LDL e da própria HDL, estabelecendo-se como interessante candidata para maiores estudos.

1.4 Vírus HIV, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) e Lípidos

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) foi reconhecida nos EUA em meados de 1981, através da identificação de um grande número de pacientes adultos, de sexo masculino e homossexuais, apresentando sarcoma de Kaposi, pneumonia por *Pneumocystis carinii* e comprometimento do sistema imune, caracterizando o surgimento de uma

doença, com etiologia provavelmente infecciosa, transmissível e ainda não classificada (Libman & Witzburg, 1995).

A identificação dos vírus HIV-1 (inicialmente denominado HTLV-III nos EUA e LAV na França) em 1983, e HIV-2, em 1986, fez com que um comitê internacional, ainda em 1986, padronizasse o termo HIV para denominar o vírus da imunodeficiência humana (Libman & Witzburg, 1995). O HIV é um retrovírus com genoma RNA, da família *Lentiviridae*, pertencente ao grupo dos retrovírus citopáticos e não oncogênicos, os quais necessitam da enzima transcriptase reversa para transcrever o RNA viral em uma cópia DNA, permitindo assim, sua integração ao genoma do hospedeiro. O HIV é um retrovírus envelopado, possuidor de duas moléculas de RNA dispostas no interior do capsídeo, conjunto este que encontra-se envolto por outra camada protéica, gerando uma estrutura chamada core. O envelope envolve o core, sendo composto por uma camada dupla de fosfolipídios na qual várias moléculas protéicas específicas do vírus encontram-se imersas; no interior do vírus encontram-se também as moléculas de transcriptase reversa (Libman & Witzburg, 1995).

O estágio inicial de uma infecção viral consiste na adsorção do vírus aos receptores da membrana plasmática da célula suscetível. O vírus HIV apresenta grande afinidade pela proteína CD4 presente na membrana plasmática de células humanas, principalmente em linfócitos T e macrófagos, mas encontrada também em monócitos, linfócitos B, timo, pele, encéfalo, medula óssea e intestino. Os linfócitos T CD4+, fisiologicamente, são células chaves no desenvolvimento da resposta imune humoral. Por sua

vez, a infecção pelo HIV, o qual mata as células CD4+, pode ser dividida em quatro fases clínicas: infecção aguda, fase assintomática ou latência clínica, fase sintomática inicial ou precoce e AIDS (Ronchini *et al.* 2004). Assim, a gravidade da infecção pelo HIV é refletida pela diminuição da contagem de células CD4+.

A evolução natural da doença caracteriza-se por intensa e contínua replicação viral em diversos compartimentos celulares e anatômicos, que resulta, principalmente, na destruição e disfunção de linfócitos T que expressam o antígeno de membrana CD4+ (linfócitos T CD4+) e de outras células do sistema imune. A depleção progressiva dos linfócitos T CD4+ leva à imunodeficiência, que em sua forma mais grave manifesta-se pelo surgimento de infecções oportunistas e neoplasias que caracterizam a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Assim, a supressão máxima e contínua da replicação viral é desejável para reduzir ou reverter o dano imunológico (www.aids.gov.br).

A infecção pelo vírus HIV consiste em uma infecção viral crônica, observando-se juntamente com a progressão da doença, além de hipertrigliceridemia, uma alteração significativa dos níveis de colesterol total, da HDL e da LDL colesterol, de apo-A1, apo-B e diminuição no tamanho das partículas de LDL, tanto nos portadores quanto na AIDS já estabelecida (Stein, 2003).

Nos pacientes com AIDS, a hipertrigliceridemia também está associada ao aumento da VLDL, de conteúdo lipídico normal, assim como à presença de partículas de LDL e HDL ricas em triglicerídeos (Stein, 2003).

Nos pacientes soropositivos e com AIDS há predomínio de LDL com fenótipo pequeno e denso (fenótipo B), sobretudo nas hipertrigliceridemias com baixos níveis de HDL. Este fenótipo de LDL oxida-se mais facilmente e é reconhecido pelos macrófagos, colaborando na aterogênese. Assim, é provável que o sistema retículo-endotelial, estimulado pela infecção por HIV, exerça ação na captação destas LDL oxidadas. Pacientes soropositivos apresentam taxas de hidroperóxidos lipídicos mais elevados e capacidade antioxidante total diminuída, quando comparado à indivíduos controles. Sabe-se que a meia vida das partículas ricas em triglicerídeos, em pacientes com HIV, é três vezes maior que a de indivíduos controle, aparentando a elevação dos triglicerídeos estar relacionada à diminuição das atividades da lipoproteína lipase e da lipase hepática (Grunfeld *et al.*, 1992).

Entretanto, a redução destes níveis, especialmente dos níveis de HDL, nos pacientes HIV+ que não desenvolvem hipertrigliceridemia é indicativo de que as alterações no metabolismo do colesterol, incluindo as alterações na HDL, precedem as grandes elevações dos triglicerídeos séricos durante a infecção pelo HIV (Grunfeld *et al.*, 1992).

A hipertrigliceridemia torna-se proeminente com a transição da infecção assintomática pelo HIV para a AIDS, na presença de uma maior carga viral e de maiores níveis de interferon- α . Durante a AIDS, observa-se também a redução das atividades das enzimas lipoproteína lipase, lipoproteína lipase hepática e lipase (Grunfeld *et al.*, 1992; Stein, 2003).

Anormalidades na defesa antioxidante do hospedeiro estão relacionadas com a progressão da infecção pelo HIV (Alonso-Villaverde *et*

et al., 2003), enquanto a ingestão de suplementos de antioxidantes, como vitaminas C e E, bem como a presença de antioxidantes como a glutathione peroxidase dependente de selênio (GSHPx-1) promovem redução do estresse oxidativo e menor replicação do HIV. Por outro lado, certas citocinas, como TNF- α , desencadeiam ou facilitam a expressão do HIV através da via de ativação do fator nuclear kappa B (NF- κ B), um fator de transcrição celular (Malavazi *et al.*, 2004; Alonso-Villaverde *et al.*, 2003).

Também a apoproteína E - presente em Quilomicrons, na HDL e VLDL - encontra-se freqüentemente sializada dentre infectados pelo HIV, o que modifica sua estrutura e pode perturbar a eliminação das lipoproteínas ricas em triglicerídeos (Malavazi *et al.*, 2004).

A HDL, possuidora de propriedades antiinflamatórias, antioxidantes e metabólicas, entre outros mecanismos, parece alterar o curso da infecção do HIV em humanos (Alonso-Villaverde *et al.*, 2003): seu efeito antioxidante induz à inibição da replicação do vírus, sua já mencionada modulação de citocinas pode induzir uma resposta imunocelular contra o HIV através da produção de IL-2 (Alonso-Villaverde *et al.*, 2003) e, finalmente, a HDL pode interferir na inicialização da replicação viral pelo TNF- α (Alonso-Villaverde *et al.*, 2003). Mais ainda, sabe-se que a apo-A1, componente protéico da HDL, apresenta similaridade de 34% em uma área de 50 aminoácidos com a proteína de matriz gag p17 do HIV (ou seja, 50% da proteína gag e 20% da seqüência codificada pelo éxon 4 do gene da apo-A1), correspondente à uma região essencial ao ciclo de vida do vírus (Alonso-Villaverde *et al.*, 2003). As proteínas gag são primordiais ao assentamento e maturação da

partícula viral, associando-se especificamente aos microdomínios colesterol presentes na superfície da membrana plasmática, com p17 mediando esta associação, indicativos da necessidade do metabolismo do colesterol celular para a replicação do vírus (Alonso-Villaverde *et al.*, 2003). Assim, interações entre apo-A1 proveniente do efluxo do colesterol e a gag p17 presente na superfície das células infectadas seriam passíveis de ocorrer dentro dos microdomínios ricos em colesterol, permitindo a interferência da apo-A1 no estabelecimento das partículas do HIV e promovendo associação significativa entre a HDL e o período de não detecção da carga viral. Desta forma, níveis séricos elevados de HDL estariam, uma vez iniciado um tratamento antiretroviral, relacionados a uma melhor resposta em pacientes portadores de HIV, dado à similaridade na seqüência e na homologia estrutural entre estas duas proteínas (apo-A1 e gag p17) (Alonso-Villaverde *et al.*, 2003). Também é relatado que a produção de algumas proteínas de fase aguda durante a infecção pelo HIV, como a amiloide sérica A, podem alterar o metabolismo da HDL. Esta proteína associa-se à HDL durante a fase aguda e retira a apo-A1 da HDL nativa, fato que altera funções da HDL como o efluxo do colesterol e seu transporte reverso (Malavazi *et al.*, 2004).

Os inibidores de protease constituem os mais potentes medicamentos anti-HIV disponíveis atualmente, limitando a maturação das partículas virais e possibilitando, assim, controlar a infecção pelo vírus HIV, bem como reduzir a morbidade e a mortalidade da AIDS. Entretanto, estes benefícios são acompanhados por diversos efeitos metabólicos colaterais indesejados, os quais incluem lipodistrofia, resistência à insulina, hiperlipidemia mais

acentuada (hipertrigliceridemia acompanhada ou não de hipercolesterolemia), bem como doença óssea metabólica (osteoporose, osteopenia e osteonecrose) e acidose láctica (ph arterial $< 7,30$ e lactato venoso $> 2\text{mmol/L}$) (Monier & Wilcox, 2004). Estas alterações adversas promovem um impacto deletério na qualidade de vida destes pacientes, afetando a auto-estima, a adesão ao tratamento prescrito e conduzindo a riscos potenciais a longo prazo. É grande o risco de desenvolver diabetes e aterosclerose acelerada, doenças que, prolongadas, podem alterar significativamente o prognóstico e a expectativa de vida dos indivíduos infectados pelo HIV, com aumento, inclusive, do risco cardiovascular. É provável também que uma predisposição genética para um mecanismo lipídico anormal contribua para o desenvolvimento da dislipidemia relacionada ao uso de inibidores de protease (Monier & Wilcox, 2004).

Particularmente os inibidores de protease, seguidos em menor intensidade pelos inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos podem afetar os metabolismos lipídico e da glicose (Grinspoon & Carr, 2005). Há forte correlação entre a duração da terapia antiretroviral (TARV) e o risco de infarto do miocárdio, associação em parte promovida pelas altas concentrações de colesterol total e triglicérides, bem como pela diminuição da quantidade de HDL (Friis-Moller *et al.*, 2003). Paradoxalmente, a interrupção da TARV também aparenta estar associada ao aumento a curto prazo deste risco, sugerindo que o HIV por si mesmo é capaz de elevar este risco e que o controle da replicação poderia reduzi-lo (Carr & Ory, 2006). A quantidade de HDL está diminuída na infecção pelo

HIV não tratada (Grunfeld *et al.*, 1992), bem como em voluntários saudáveis expostos por curto período à inibidores de protease (lopinavir e ritonavir associado a atazanavir) (Noor *et al.*, 2005; Shafran *et al.*, 2005). Em portadores de HIV que iniciam TARV que suprime eficazmente a replicação do vírus, observa-se aumento das quantidades de HDL mesmo ao se utilizar um inibidor de protease (Malan *et al.*, 2006; Johnson *et al.*, 2006; van der Valk *et al.*, 2001), indicando que o efeito do HIV sobre as taxas de HDL é maior do que o acarretado pelo efeito do TARV.

Os mecanismos pelos quais estes inibidores promovem as alterações ainda são desconhecidos e vem sendo estudados. Entretanto, seu maior efeito parece se dar pela supressão da quebra da forma nuclear do elemento regulador de esterol ligado a proteínas (nSREBP) no fígado e tecido adiposo. Este regulador constitui um elemento chave na via proteolítica responsável pela regulação dos níveis celulares e plasmáticos de gordura e de colesterol (Kuhel *et al.*, 2000; Hui, 2003). O acúmulo hepático do nSREBP resulta no aumento da biosíntese de ácidos graxos e colesterol, enquanto que o acúmulo de nSREBP no tecido adiposo causa lipodistrofia, reduz a expressão de leptina e promove resistência à insulina (Hui, 2003). Os inibidores de protease de HIV também parecem suprimir a quebra da apolipoproteína B nascente mediada pelos proteossomos, resultando, assim, no aumento da produção e secreção de lipoproteínas ricas em triglicerídeos, bem como inibem inespecificamente a proteína relacionada ao receptor de LDL (LRP) ao com ela competirem, como ocorre para a região catalítica da protease HIV (Malavazi *et al.*, 2004). Neste caso, o acúmulo errôneo de

colesterol poderia, ao menos em parte, ser conseqüente à inibição da LRP no fígado (Malavazi *et al.*, 2004). Por fim, é relatado que os inibidores de protease suprimem a inibição do transportador de glicose GLUT-4, o qual age no tecido adiposo e muscular, contribuindo diretamente também para a resistência de insulina e diabetes (Hui, 2003). Recentemente Mujawar *et al.* (2006) investigaram se a diminuição das quantidades de HDL seria devida ao desequilíbrio no efluxo de colesterol de macrófagos, processo mediado pelo transportador ABCA-1 de colesterol entre célula e superfície, o qual promove a incorporação de lípidos na apo-A1 e tem papel central na formação da HDL nascente. Observaram que a expressão da proteína *nef* do HIV, a qual potencializa a replicação e a infectividade, inibe de modo específico o efluxo de colesterol a partir de macrófagos e realoja ABCA1 em uma distribuição única na membrana plasmática. Enquanto células transfectadas com *nef* apresentaram aumento da ligação de apo-A1, sua internalização encontrava-se bloqueada, sugerindo que a proteína consegue evitar a internalização de ABCA-1 e a subsequente incorporação de lípidos pela apo-A1. Desta forma, o redirecionamento promovido pelo vírus visa assegurar colesterol suficiente para o seu assentamento e replicação (Mujawar *et al.*, 2006), conduzindo à diminuição da HDL-colesterol e aterosclerose acelerada (Aiello *et al.*, 2002).

O metabolismo das drogas antiretrovirais (Haas *et al.*, 2003; Fellay *et al.*, 2002; Rotger *et al.*, 2005) e a lipodistrofia associada ao HIV também podem estar relacionados às variações genéticas. Polimorfismos na apolipoproteína C (apo-C) são comuns em populações infectadas pelo HIV

(Fauvel *et al.*, 2001; Tarr *et al.*, 2005), estando associados a hipertrigliceridemia tanto em indivíduos HIV positivo como negativo (Lai *et al.*, 2005; Fauvel *et al.*, 2001; Tarr *et al.*, 2005; Li *et al.*, 1995; Dammerman *et al.*, 1993).

Na lipodistrofia há a perda de gordura periférica e aumento da adiposidade central. A perda de gordura é acompanhada pela redução na gordura subcutânea, promovendo atrofia da gordura facial, acentuação da estrutura óssea da face, perda de gordura na região das nádegas e uma aparência sulcada dos membros superiores e/ou inferiores. O acúmulo de gordura ocorre normalmente em diversas regiões (mesentérica e/ou retroperitoneal, subcutânea abdominal, cervical, supraclavicular e mamária) (Mercie *et al.*, 2000). A ocorrência de lipodistrofia parece estar relacionada com uma redução severa dos níveis de anticorpos anti-LDL modificada e ao aumento da quantidade de LDL modificada (Ronchini *et al.*, 2004).

A tendência ao desenvolvimento de dislipidemia durante a doença causada pelo HIV pode ser detectada mesmo antes da introdução da TARV, com a frequência e a severidade da hipertrigliceridemia e da hipercolesterolemia sendo inversamente relacionadas à uma contagem de linfócitos T CD4+ diminuída (Manfredi & Chiodo, 2001; Constans *et al.*, 1994). Cerca de 50-70% dos pacientes tratados com TARV contendo inibidores de protease apresentam alterações do perfil lipídico, normalmente caracterizadas pelo aumento em 50-300% dos níveis de triglicerídeos e em 20-50% dos níveis de colesterol, bem como por alterações nas frações VLDL, LDL e nas apoproteínas associadas, enquanto os níveis de HDL

séricos permanecem quase inalterados (Manfredi & Chiodo, 2001; Riddler *et al.*, 2003). Segundo um estudo suíço em pacientes HIV, a ocorrência de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia foi 1,7 a 2,3 vezes mais freqüente em usuários da TAAA com inibidores de protease (Fellay *et al.*, 2001), dados concordantes com estudo realizado em outro centro médico, onde observaram-se taxas de 60% para hipercolesterolemia (>240 mg/dL) e 75% para hipertrigliceridemia (>500 mg/dL), com taxas de incidência de 2,8 e 6,1 respectivamente, atribuídas ao uso desta terapia (Tsiodras *et al.*, 2000). Assim, o tratamento da hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia é indicado, empregando-se recomendações tradicionais adotadas internacionalmente (dieta hipolipidêmica, aumento da ingestão de fibras e de alimentos contendo ácidos graxos ômega-3, prática de exercícios físicos, uso de medicamentos como zidovudine, abandono do tabagismo e redução do consumo de álcool) (Monier & Wilcox, 2004). Entretanto, o mecanismo pelo qual os inibidores de protease HIV conduzem à dislipidemia ainda não foi totalmente elucidado, aparentando estar relacionado com a superprodução hepática de VLDL, ao desequilíbrio do *clearance* de lipoproteínas, bem como à uma provável ação mediadora da resistência à insulina sobre as alterações adversas das lipoproteínas (Grunfeld *et al.*, 1992; Stein, 2003).

Como demonstrado, é ampla a contribuição da oxidação lipídica, em especial das lipoproteínas, em patogenias como a inflamação vascular e aterogênese, processos estes que conduzem a outras doenças como a coronariana cardíaca e complicações vasculares de diabetes mellitus, entre outras.

Na infecção pelo HIV, como na AIDS já instalada, são observadas alterações relacionadas às doenças acima, tanto pelo processo infeccioso como pelo próprio tratamento disponível atualmente. Também são relatados nestes pacientes, dislipidemia - caracterizada por aumento de colesterol total, LDL e triglicérides com diminuição da HDL - bem como aumento de estresse oxidativo, entre outras manifestações.

As enzimas PON, as quais aparentemente apresentam diferentes especificidades aos substratos, atuam de modo importante na proteção contra o dano tecidual da HDL e LDL oxidadas, estando, inclusive, aptas a inativar mediadores químicos responsáveis pelo dano cardiovascular. A atual diversidade de estudos e achados sobre esta família de enzimas busca determinar suas possíveis funções biológicas, as quais - apesar de um maior conhecimento sobre PON1, a primeira a ser descoberta - possam até convergir em funções biológicas comuns (La Du, 2001).

Assim, postula-se que esta família de enzimas - particularmente PON1 e PON2 que apresentam ação plasmática e intracelular, respectivamente - possa sofrer influência deste processo infeccioso e, por sua vez, modificar certos processos de oxidação.

2. Objetivos

- Determinar as frequências alélicas dos polimorfismos PON1-192QR, PON1-55LM, PON2-311SC e PON2-148AG em uma população composta por indivíduos infectados pelo vírus HIV.
- Avaliar nestes pacientes a atividade da enzima PON1 e sua relação com polimorfismos no gene.
- Avaliar a peroxidação lipídica no plasma de indivíduos infectados pelo vírus.

3. Casuística, Materiais e Métodos

3.1 População Estudada

A casuística abrangeu um total de 561 indivíduos, distribuídos em três grupos: pacientes portadores de HIV (PACIENTES), portadores de HIV ao diagnóstico (PORT HIV) e indivíduos saudáveis, abaixo discriminados.

Este estudo foi aprovado pela comissão de ética para análise de projetos de pesquisa (CAPPesq) do HCFMUSP em 26 de agosto de 2004 (nº539/04).

3.1.1 Pacientes

Foram avaliados um total de 350 pacientes provenientes do ambulatório de Extensão ao Atendimento de Pacientes HIV/AIDS - Casa da AIDS – do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP). Este grupo, que encontrava-se em jejum de 8-12 horas quando da coleta das amostras de sangue, foi composto por 264 homens (75,4%) e 86 mulheres (24,6%), com idade variando entre 19 e 73 anos (mediana de 41,00 anos; média $\pm$ desvio padrão: 41,54 $\pm$ 9,02 anos).

Dos 350 pacientes avaliados, em 284 deles estavam disponíveis, nos prontuários, resultados de determinação de colesterol total e em 285 deles, resultados de determinação de triglicérides. Ainda neste grupo de 350 indivíduos, em 281 estavam disponíveis, nos prontuários, resultados de determinação de HDL-colesterol; em 280 deles, resultados de determinação de LDL-colesterol e em 278 deles, resultados de determinação de VLDL-colesterol.

Também foram obtidas nos prontuários as contagens de linfócitos T CD4+, CD8+ e da quantidade de partículas virais (carga viral) de 348

pacientes. Em 238 pacientes a carga viral encontrava-se indetectável (abaixo de 400 cópias/ml).

Os dados referentes ao sexo, idade, raça, bem como as determinações de colesterol total, frações, triglicérides, contagens de linfócitos T CD4+ e CD8+ e carga viral destes pacientes estão relacionados no anexo A. Os esquemas de medicação antiretroviral administrados aos pacientes à época da coleta das amostras encontram-se no anexo B.

3.1.2 Portadores de HIV ao diagnóstico

Este grupo foi composto por um total de 32 indivíduos detectados, e posteriormente confirmados, como portadores de HIV ao doarem sangue na Fundação Pró-Sangue/ Hemocentro de São Paulo (FPS/HSP). Destes, 23 (71,90%) eram homens e 9 (28,10%) mulheres, cuja idade variou entre 19 e 57 anos (mediana de 26,50 anos; média $\pm$ desvio padrão: 30,09 $\pm$ 9,58 anos) e que também encontravam-se em jejum de, no mínimo, 4 horas quando da coleta das amostras de sangue. Foram determinadas as concentrações de colesterol total, frações e triglicérides, entretanto, as contagens de linfócitos T CD4+, CD8+ e da quantidade de partículas virais (carga viral) não puderam ser realizadas. Os dados referentes ao sexo, idade e raça, bem como determinações de colesterol total, frações de colesterol e triglicérides destes portadores de HIV ao diagnóstico encontram-se no anexo C.

3.1.3 Indivíduos Saudáveis

A frequência dos polimorfismos, bem como a atividade de PON1 também foram estudadas em um grupo de 179 indivíduos saudáveis, doadores de sangue na Fundação Pró-Sangue/ Hemocentro de São Paulo. Este grupo, em estado pós-prandial quando da doação de sangue e obtenção destas amostras, foi composto por homens das raças caucasiana, negra e miscigenados, com idade variando entre 19 e 65 anos (mediana de 32,00 anos; média $\pm$ desvio padrão: $34,87 \pm 10,52$ anos).

A idade e raça, bem como as determinações de colesterol total, frações, e triglicérides dos doadores de sangue encontram-se listados no anexo D.

3.2 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE SORO/ PLASMA

Após os esclarecimentos e informações pertinentes, bem como da aplicação/aceitação do termo de consentimento livre e esclarecido, obteve-se sangue periférico (05 ml com anticoagulante EDTA e 08 ml em tubo sem anticoagulante) dos pacientes, dos portadores de HIV ao diagnóstico e dos indivíduos saudáveis. Os modelos destes termos de consentimento constam dos anexos E (pacientes) e F (saudáveis). Para o grupo de portadores de HIV ao diagnóstico foi usado o “termo de consentimento do doador”, conforme disposto no procedimento operacional padrão (POP) número 024003 (Atendimento ao doador – ambulatório) da Fundação Pró-Sangue/ Hemocentro de São Paulo e por ela empregado. Neste termo, aprovado pela comissão de ética do referido hemocentro sob o código CEM-001, além da

autorização para a coleta da amostra que será utilizada para a repetição do(s) teste(s) sorológico(s) de resultado inconclusivo quando da doação de sangue, consta informação de que o material remanescente desta amostra será disponibilizado para controle de qualidade e/ou para pesquisa. Os tubos contendo o material biológico foram, então, imediatamente mantidos a 0°C (banho de gelo) por até 60 minutos. Dentro deste período, foram centrifugados a 2000 rpm durante 15 minutos a 8°C, visando aliqüotar-se soro e plasma (armazenados a -80°C até o uso) e obter-se a purificação do DNA genômico no mesmo dia da coleta.

3.3 REAGENTES

Reagentes utilizados na determinação da atividade da PON1: paraoxon, Cloreto de Cálcio e Tris (Sigma Chemical CO – St. Louis, EUA), HCl (Merck – Darmstadt, Germany). Reagentes utilizados na extração do DNA genômico: Sacarose e Tris (Sigma Chemical CO – St. Louis, EUA) , EDTA e Proteinase K (Gibco/ BRL – Grand Island, NY, USA), Etanol P.A. (Merck – Darmstadt, Germany)

Reagentes empregados na PCR: *primers* obtidos da Operon Biotechnologies (Cologne, Alemanha); Taq DNA polimerase, dNTPs e tampão de PCR, marcadores de peso molecular de 50 pb, λ DNA Hind III e o λ DNA adquiridos da Invitrogen (Carlsbad - CA, EUA), albumina bovina (Sigma Chemical CO – St. Louis, EUA). As enzimas de restrição Hinf I e Fnu4HI foram adquiridas da Pharmacia Biotech (Uppsala, Suécia) e da New England Biolabs (Beverly – Ma, EUA), respectivamente.

Os materiais utilizados para eletroforese e todos os outros reagentes empregados eram puros para análise.

Reagentes empregados para o teste das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS): ácido tricloroacético, ácido tiobarbitúrico, ambos da Merck (Darmstadt, Germany).

3.4 DNA genômico e genotipagem para os polimorfismos

3.4.1 Obtenção de DNA genômico a partir de células de sangue periférico

As amostras de sangue, coletadas a vácuo em tubo contendo anticoagulante EDTA, foram processadas conforme descrito por Miller et al. (Miller *et al.*, 1998) modificado. Neste método, há remoção de proteínas celulares pela desidratação e precipitação com solução saturada de NaCl.

A separação dos leucócitos e purificação do DNA genômico foram realizadas em duplicata para cada amostra pesquisada.

Um ml de sangue foi diluído com 1 ml de tampão de lise (Tris-HCl 10 mM, pH 7,5, sacarose 34 mM, MgCl₂ 10 mM, Triton X-100 1%), obtendo-se o sedimento de leucócitos após centrifugação por 10 minutos a 1.700 g em temperatura de 4°C. Os leucócitos foram, então, novamente ressuspensos em tampão de lise e centrifugados por 5 minutos a 960 x g em temperatura ambiente. Após remoção do sobrenadante, o sedimento foi ressuspenso em 750 µL de tampão TEN (Tris-HCl 10 mM, pH 8,2, EDTA 2 mM, NaCl 400 mM), mais 100 µL de SDS 10% e 125 µL de proteinase K (2mg/ml), homogeneizando-se e incubando-se a mistura por 1 hora a 56°C, visando à

completa digestão das células lisadas. Adicionou-se, então, 250 μ L de NaCl saturado, agitando-se vigorosamente por 15 segundos e sedimentando-se as proteínas através da centrifugação por 10 minutos a 960 g. Por precipitação, o DNA foi recuperado do sobrenadante, adicionando-se dois volumes de etanol absoluto e centrifugando-se por 5 minutos a 960g. Após, o DNA foi lavado com etanol 70%, a fim de remover-se o excesso de sal, submetido à secagem por 10 minutos em centrífuga a vácuo modelo Speed Vac AES1010 (Savant Instruments - Farmingdale, NY, EUA) e reidratado em TE (Tris-HCl 10 mM, pH 8, EDTA 1 mM).

A figura 1 representa as etapas da extração inorgânica de DNA.

Figura 1 - Etapas da extração inorgânica de DNA

3.4.2 Quantificação do DNA genômico

A integridade do DNA genômico obtido a partir de leucócitos de sangue periférico foi avaliada em gel de agarose 1%. O gel empregado, com 5 mm de espessura e medindo 7 x 15 cm, continha brometo de etídeo (0.5 $\mu\text{g/ml}$) o qual, durante a eletroforese, intercala-se entre os nucleotídeos formando um complexo fluorescente mediante exposição à luz ultravioleta. O tampão utilizado foi TAE (Tris 40 mM, Acetato de sódio 5 mM e EDTA 1 mM) e a voltagem, constante, de 75V por 40 minutos.

Junto às amostras, foram aplicadas também seis amostras de DNA de fago λ (clind 1ts 857 SAM 7) íntegro (48.502 pb), de concentrações conhecidas – 200 ng/ 5 μL ; 100 ng/ 5 μL ; 50 ng/ 5 μL ; 25 ng/ 5 μL ; 12,5 ng/ 5 μL e 6,25 ng/ 5 μL – e, por comparação, foi possível estimar a concentração do DNA genômico. A verificação do tamanho do DNA, assim como sua integridade, foi feita pela comparação entre as migrações das amostras e dos fragmentos do λDNA digerido com Hind III (os quais variam entre 23.130 pb e 564 pb). A figura 2 exemplifica a observação do DNA genômico obtido a partir de leucócitos de sangue periférico.

Figura 2 - DNA genômico obtido a partir de amostras de sangue periférico e separado em gel de agarose 1%. λ DNA: λ DNA digerido com Hind III (2 μg); 200 ng, 100 ng, 50 ng, 25 ng, 12 ng e 6 ng: quantidades conhecidas de λ DNA em 5 μl; 1, 2, 3 e 4: amostras de DNA genômico extraído (em duplicatas).

3.4.3 Genotipagem para os polimorfismos

Foram amplificados fragmentos específicos para cada região pesquisada, os quais foram posteriormente digeridos por enzimas de restrição adequadas, de modo a permitir diferenciarem-se os possíveis genótipos para cada polimorfismo estudado (análise do polimorfismo do tamanho do fragmento de restrição - *RFLP*).

2.4.3.1 Determinação dos polimorfismos 192QR e 55LM no gene da enzima paraoxonase 1 e 311 no gene da enzima paraoxonase 2 (PCR Multiplex)

Realizou-se a análise destes polimorfismos conforme descrito por Motti *et al.* (2001). A PCR, multiplex, utiliza primers desenhados de modo a introduzir um sítio de reconhecimento para Hinf I em um alelo de cada produto da PCR. Esta estratégia permitiu a identificação simultânea dos três

polimorfismos da PON em um único ensaio de amplificação seguido de uma única análise de restrição (Motti *et al.*, 2001).

Os produtos amplificados possuíam 111 pb (polimorfismo PON1-192), 144 pb (polimorfismo PON1-55) e 196 pb (polimorfismo PON2-311). Após a digestão com Hinf I, o fragmento de 111 pb gerou os fragmentos de 77 e 34 pb no caso do alelo R, enquanto o fragmento de 144 pb apresentou os fragmentos de 122 e 22 pb no caso do alelo L. Da mesma maneira, após digestão com a enzima, o fragmento de 196 pb originou os fragmentos de 173 e 23 pb na presença do alelo S. No caso de indivíduos portadores dos alelos PON1-192Q, PON1-55M ou PON2-311C em homozigose e heterozigotos, os fragmentos digeridos apareceram juntos (na mesma altura) com as bandas não digeridas.

As seqüências de primers (Motti *et al.*, 2001) utilizadas foram:

PON1-55F (5'→3'): GAG TGA TGT ATA GCC CCA GTT TC;

PON1-55R (5'→3'): AGT CCA TTA GGC AGT ATC TCCg;

PON1-192F (5'→3'): TTG AAT GAT ATT GTT GCT GTG GGA CCT GAG;

PON1-192R (5'→3'): CGA CCA CGC TAA ACC CAA ATA CAT CTC CCA GaA;

PON2-311 (5'→3'): GGT TCT CCG CAT CCA GAA CAT TgaA;

PON2-311 (5'→3'): TGT TAA GaT ATC GCA CTa TCA TGC C.

As amostras de DNA genômico de cada indivíduo foram submetidas à PCR em uma reação feita em volume de amplificação de 25 µl contendo Tris-HCl 10 mM, KCl 50 mM, pH=8,3; 0,8 µg/µL final de albumina; MgCl₂ 7 mM; 600 µM de cada nucleotídeo trifosfato; 0,16 µM de cada primer PON1-

192 e de cada primer PON1-55; 0,3 μ M de cada primer PON2-311, 1 U de Taq polimerase e 1 μ g de DNA genômico.

A amplificação envolveu uma desnaturação inicial das amostras à 95°C por 5 minutos, seguida de 40 ciclos de 94°C por 1 minuto (desnaturação), 61°C por 45 segundos (anelamento) e 72°C por 45 segundos (extensão). O termociclador empregado foi um Peltier Thermal Cycler PTC-200 (MJ Research, EUA).

Os produtos da PCR foram então digeridos por 16 horas a 37°C com 2 U de enzima Hinf I, preparada em tampão Tris-HCl 10 mM, pH 8,0, NaCl 60 mM, MgCl₂ 10 mM, β -ME 1mM. Após a digestão, foram diluídos 1:5 em tampão contendo 0,25% de azul de bromofenol, 0,25% de xileno cianol e glicerol 30%.

Foram a seguir analisados por separação em gel de acrilamida a 6% (contendo uréia 8M em tampão TBE 0,5x), aplicando-se 5 μ l de cada amostra nos poços do gel de acrilamida. Também foram incluídos, no gel, 5 μ l de marcador de peso molecular de 50 pb e amostras de DNA genômico obtidos a partir de sangue total representando os possíveis genótipos dos polimorfismos PON1-192, PON1-55 e PON2-311, como controles. A separação foi realizada empregando-se uma corrida de 60 minutos a 60 W constantes. Foi utilizado um sistema de seqüenciamento modelo S2 (GIBCO, EUA).

A posterior observação das bandas foi obtida pela coloração com nitrato de prata 0,1% (Bassam *et al.*, 1991), obedecendo-se o seguinte protocolo: ácido acético 10% durante 20 minutos; 3 lavagens com água

deionizada durante 2 minutos cada uma; nitrato de prata 0,1% mais formaldeído 0,1% durante 30 minutos; lavagem com água deionizada durante 10 segundos; carbonato de sódio 3% mais formaldeído 0,1% durante 5 minutos; ácido acético 10% durante 5 minutos; lavagem com água deionizada durante 5 minutos.

A figura 3 demonstra os possíveis perfis eletroforéticos de produtos amplificados empregando- se a PCR multiplex.

Polimorfismo PON2-311: Fragmento amplificado (196 pb) digerido com Hinf I			
Genótipo	S/S	C/S	C/C
	↓	↓	↓
Fragmento 196 pb	Não	Sim	Sim
Fragmento 173 pb	Sim	Sim	Não
Fragmento 23 pb	Sim	Sim	Não
Polimorfismo PON1-55: Fragmento amplificado (144 pb) digerido com Hinf I			
Genótipo	L/L	L/M	M/M
	↓	↓	↓
Fragmento 144 pb	Não	Sim	Sim
Fragmento 122 pb	Sim	Sim	Não
Fragmento 22 pb	Sim	Sim	Não
Polimorfismo PON1-192: Fragmento amplificado (111 pb) digerido com Hinf I			
Genótipo	Q/Q	Q/R	R/R
	↓	↓	↓
Fragmento 111 pb	Sim	Sim	Não
Fragmento 77 pb	Não	Sim	Sim
Fragmento 34 pb	Não	Sim	Sim

Figura 3 – Esquema dos perfis eletroforéticos possíveis para produtos amplificados na detecção dos polimorfismos PON1-192QR, PON1-55LM, PON2-311SC (multiplex)

A figura 4 ilustra a amplificação por PCR multiplex das alterações PON1-192QR, PON1-55LM, PON2-311SC.

Figura 4 - Pesquisa das mutações PON1-192, PON1-55 e PON2-

L: marcador de peso molecular de 100 pb (bandas à direita e esquerda do
1: amostra amplificada por PCR e não digerida - visualizam-se as bandas de pb (PON1-192), 144 pb (PON1-55) e 196 pb (PON2- **2:** Análise dos
 fragmentos após digestão com Hinf I - visualizam-se as bandas de 111 e 77 (PON1-192QR), de 144 e 122 pb (PON1-55LM) e uma banda de 173 pb 311SS).

3.4.3.2 Determinação da alteração PON2-148AG no gene da enzima paraoxonase 2

A genotipagem para o códon 148 da PON2 foi realizada por PCR, conforme descrito por Hegele *et al.* (1997). As seqüências de primers empregadas foram:

PON2-148-5': 5'-AGT GGA AAT TTT TAA ATT TGA AGC AG-3' e

PON2-148-3': 5'-TTG TTT GCA AAT GCT GGG GAT-3'.

Amostras de DNA genômico de cada indivíduo foram submetidas à PCR em uma reação feita em volume de amplificação de 25 µl contendo Tris-HCl 10 mM, KCl 50 mM, pH=8,3; 0,8 µg/µL final de albumina; MgCl₂ 7

mM; 600 μ M de cada nucleotídeo trifosfato; 0,16 μ M de cada “primer” pertinente à PON2-148; 1 U de Taq polimerase e 1 μ g de DNA genômico.

A amplificação envolveu uma desnaturação inicial das amostras à 95°C por 5 minutos, seguida de 40 ciclos de 94°C por 1 minuto (desnaturação), 61°C por 45 segundos (anelamento) e 72°C por 45 segundos (extensão). O termociclador empregado foi um Peltier Thermal Cycler PTC-200 (MJ Research, EUA).

Os produtos da PCR foram então digeridos por 16 horas a 37°C com 1U de enzima Fnu4H I (RFLP), preparada em tampão Tris-HCl 10 mM, pH 8,0, NaCl 60 mM, MgCl₂ 10 mM, β -mercapto etanol 1mM.

O produto amplificado possui 130 pb. Deste modo, o fragmento digerido com a enzima, apresentou dois fragmentos menores para o amplicon derivado de um alelo PON2 codificando para A148 e um único fragmento para o amplicon derivado de um alelo PON2 codificando para G148 (Hegele *et al.*,1997).

As amostras amplificadas e digeridas foram avaliadas em gel de agarose a 4%, contendo brometo de etídeo e visualizado em um sistema de documentação de géis VDS Image Master, Pharmacia Biotech (Uppsala, Suécia). Foram também aplicados no gel, 5 μ L de marcador de peso molecular de 50 pb e amostras amplificadas com genótipo conhecido para esta alteração.

A figura 5 representa os possíveis genótipos para o polimorfismo PON2 148 A→G.

Polimorfismo PON2-148AG: Fragmento amplificado e digerido com Fnu4H I			
Genótipo	A/A	G/G	A/G
Fenótipo	Normal	Mutado	Heterozigoto
	↓	↓	↓
Fragmento maior	Não	Sim	Sim
Fragmento menor	Sim	Não	Sim

Figura 5 – Esquema dos perfis eletroforéticos possíveis para PON2-148AG.

A figura 6 ilustra os genótipos normal, heterozigoto e homozigoto para o polimorfismo PON2-148AG, após digestão do produto amplificado com enzima Fnu4H I (gel de agarose).

Figura 6 – Pesquisa da mutação PON2-148AG (RFLP) em gel de agarose.

3.5. Análise da Atividade Basal de PON1 sérica

A atividade basal da PON1 sérica foi determinada conforme métodos de Senti *et al.* (2003) e Agachan *et al.* (2004) modificados, empregando-se, como substrato, paraoxon (O,O dietil – O – paranitrofenil fosfato) (Sigma-Aldrich Chemical CO– St. Louis, EUA). A hidrólise enzimática do paraoxon

libera *p*-nitrofenol, cuja taxa de formação foi determinada por espectrofotometria, forma mais comumente empregada para medir-se a atividade desta enzima.

O ensaio foi realizado em duplicata para cada amostra avaliada. Diluiu-se 25 µL de soro do(a) paciente, descongelado em temperatura ambiente, em 500 µL de tampão (Tris-HCl 0,1M pH 8,05, CaCl₂ 2 mmol/L e paraoxon 5,5 mmol/L), transferindo-se 320 µL para um poço de microplaca de 96 orifícios e fundo chato. Procedeu-se, assim, a leitura das absorbâncias a cada minuto, durante 10 minutos, em leitor de microplacas (Microplate Reader, Benchmark, Bio-RAD, Hercules – Ca, EUA) em comprimento de onda de 405 nm à 37°C.

O resultado foi expresso em U/L (1 U/L é definida como 1µmol de *p*-nitrofenol formada por minuto por litro de soro), empregando-se para os cálculos o coeficiente de extinção molar do *p*-nitrofenol ($18,05 \times 10^3$). As equações abaixo demonstram os cálculos do fator e da atividade da PON1 sérica.

Cálculo do Fator:

$$FATOR = \frac{VTR(mL)}{\epsilon_{405} \times VA(mL) \times E(cm)}$$

$$\epsilon_{405} = 18050 \text{ L M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

$$VTR \text{ (volume total da reação)} = 500 \text{ µL solução} + 25 \text{ µL da amostra} = 525 \text{ µL}$$

$$VA \text{ (volume da amostra)} = 25 \text{ µL}$$

E (espessura da cubeta) = 1 cm

Substituindo os valores e ajustando para as unidades internacionais temos:

$$\text{Fator} = 1163,43 \text{ nMol mL}^{-1}$$

Cálculo da Atividade:

Atividade da Paraoxonase = Fator x $\Delta\text{abs}/\text{min}$ = $1163,43 \times \Delta\text{abs}$ nMol min⁻¹ mL⁻¹, onde Δabs é igual a média da variação das absorbâncias medidas a cada 1 minuto.

3.6 Avaliação do Perfil Lipídico

3.6.1 Pacientes

Foram consideradas as determinações de colesterol total, triglicérides, bem como as frações de HDL colesterol e LDL colesterol dentre o período de até seis meses antes ou depois da coleta da amostra de sangue, conforme a disponibilidade destes dados nos prontuários dos pacientes inclusos da pesquisa.

Desta forma, 284 pacientes dispunham dos resultados de colesterol total em seus prontuários, 281 apresentavam resultados de HDL-colesterol, 280 prontuários dispunham dos resultados de LDL-colesterol e 278, resultados de VLDL-colesterol. Os resultados de determinações de triglicérides estavam disponíveis em 285 prontuários do grupo de pacientes avaliado.

Estes exames foram realizados na rotina do Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP, empregando-se um analisador automático Modular Analytics P-800 (Roche/Hitachi) e kits compatíveis (CHOL, HDL-C Plus e TG 2ª geração) fornecidos pelo fabricante do equipamento e os resultados, expressos em mg/dL.

O método empregado para as determinações de triglicérides, colesterol total, bem como das frações HDL-colesterol e VLDL-colesterol foi o enzimático colorimétrico automatizado.

Para a determinação da LDL-colesterol, o método utilizado foi o cinético automatizado.

Os valores de referência considerados para o colesterol total foram: desejável – inferior a 200 mg/dL; limítrofe – 200 a 239 mg/dL; elevado – superior a 240 mg/dL; para a HDL-colesterol foram: sem risco – superior a 55 mg/dL; risco moderado – 35 a 55 mg/dL; risco elevado – inferior a 35 mg/dL; para a LDL-colesterol foram: sem risco – inferior a 130 mg/dL; risco moderado – 130 a 159 mg/dL; risco elevado – superior a 159 mg/dL; para a VLDL-colesterol foram: sem risco – inferior a 40 mg/dL e para os triglicérides foram: desejável – inferior a 150 mg/dL; limítrofe: 150 a 200 mg/dL; elevado: 200 a 499 mg/dL; alto risco: superior a 500 mg/dL.

A tabela 1 apresenta os valores de referência empregados para as determinações lipídicas realizadas no Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP.

Tabela 1 – Valores de referência para as determinações lipídicas (expressos em mg/dL)

Determinação	Referência (em mg/dL)			
Colesterol total	Desejável	Limítrofe	Elevado	--
	Inferior a 200	De 200 a 239	Superior a 240	--
HDL-colesterol	Sem risco	Risco moderado	Risco elevado	--
	Superior a 55	35 a 55	Inferior a 35	--
LDL-colesterol	Sem risco	Risco moderado	Risco elevado	--
	Inferior a 130	130 a 159	Superior a 159	--
VLDL-colesterol	Sem risco	--	--	--
	Inferior a 40	--	--	--
Triglicérides	Desejável	Limítrofe	Elevado	Alto risco
	Inferior a 150	150 a 200	200 a 499	Superior a 500

3.6.2 Portadores de HIV ao diagnóstico

O colesterol total, as frações de HDL- colesterol e LDL-colesterol, assim como os triglicérides dos 32 indivíduos que compuseram o grupo dos portadores de HIV ao diagnóstico foram determinados pelo Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP, obedecendo a mesma rotina e valores de referência utilizados pelo setor.

3.6.3 Indivíduos Saudáveis

Também neste grupo foram determinados o colesterol total, as frações de HDL- colesterol e LDL-colesterol, bem como triglicérides. Ressalta-se aqui que este grupo encontrava-se em condição pós-prandial, diferentemente da população de pacientes avaliada.

Também estes exames foram realizados pelo Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP, dentro das mesmas condições empregadas para as determinações acima.

3.7. Determinação dos linfócitos T CD4+, CD8+ e carga viral do grupo de pacientes da Casa da AIDS

Incluíram-se aqui as contagens de linfócitos T CD4+ e CD8+, bem como da quantidade de partículas virais, cedidas pelo Laboratório de Virologia da USP. Estas contagens são realizadas periódica e rotineiramente para estes pacientes no referido laboratório e estavam disponíveis para 348 pacientes.

O método empregado para a contagem de células CD4+ e CD8+ foi a citometria de fluxo e o equipamento, um FACScalibur (Becton Dickinson, San Diego, CA, USA). Os valores de referência para a contagem do número de células CD4+ foram de 410 a 1.590 células/mm³ e para a contagem do número de células CD8+, de 190 a 1.140 células/mm³.

Para a determinação da carga viral, foi empregado método Amplicor Roche Standard (PCR) e equipamento KOBAS Amplicor (Roche, EUA). A contagem do número de partículas do vírus HIV (em cópias por ml) considerava como indetectável os valores abaixo de 400 cópias/ml.

A tabela 2 apresenta os valores de referência para as contagens de células CD4+, CD8+ e da carga viral utilizados pelo Laboratório de Virologia da USP.

Tabela 2 – Valores de referência para contagens de células CD4+ e CD8+, e para a contagem do número de partículas virais (carga viral)

Parâmetro	Valor de referência
Contagem células CD4+	de 410 a 1.590 células/ mm ³
Contagem células CD8+	de 190 a 1.140 células/ mm ³
Contagem partículas virais	Indetectável : abaixo de 400 cópias/ ml

3.8 Reação ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Um indicativo da peroxidação lipídica, mais especificamente da degradação oxidativa de ácidos graxos, do plasma de pacientes e dos portadores do HIV ao diagnóstico foi realizado pelo método das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme Ohkawa *et al.* (1979) modificado. Visto aos 179 doadores de sangue que compuseram a população saudável avaliada para as outras determinações aqui propostas não se encontrarem em jejum, foram obtidos um total de 25 voluntários, visando formar um grupo de indivíduos saudáveis para comparação apenas dos valores obtidos no TBARS.

Foram identificadas e empregadas duas séries de tubos de vidro com seus respectivos tubos controle (branco). Na primeira bateria (denominada “A”), foram dispensados 1 ml de ácido tricloroacético (TCA) 20% e 200µL de plasma. Na segunda (denominada “B”), foram adicionados 1 ml de ácido tiobarbitúrico 0,86% (preparado em TCA 20%) e 200µL de plasma. Esta última série, “B”, foi sempre realizada em duplicata. Para o controle (branco) de “A” foram pipetados 1 ml de TCA 20% e para o de “B”, 1 ml de TBA

0,86% preparado como mencionado acima. À seguir, as misturas contidas nos tubos foram homogeneizadas em agitador tipo vórtex de modelo Maxy Mix II (Thermolyne Inc., Dubuque, Iowa - USA) e incubadas em banho-maria (100°C) durante 30 minutos. Findo o período de incubação, foram imediatamente mantidas a 0°C (banho de gelo) durante 20 minutos. Após nova homogeneização em agitador tipo vórtex, as misturas foram transferidas para microtubos do tipo Eppendorf (com capacidade para 1,7 ml), identificados, e centrifugadas durante 4 minutos a 8000 rpm. A centrífuga utilizada foi uma de marca Eppendorf, modelo 5417R (Eppendorf, Hamburg - Germany). Os sobrenadantes foram lidos em absorvância de 535 nm, empregando-se espectrofotômetro de modelo DU-70 (Beckman Instruments Inc - Palo Alto, CA, USA).

O cálculo da medida de lipoperoxidação foi realizado descontando-se o valor obtido da leitura do branco, respectivamente para as séries denominadas como “A” e “B”, e subtraindo-se a absorvância obtida na leitura da série “A” da média das leituras obtidas para a série “B”. Dividiu-se, então, o valor obtido pelo coeficiente de extinção molar do malonaldeído: 0,0312.

Os resultados foram expressos em nmoles de MDA por ml de plasma (nmoles/ml).

3.9 Análise estatística

Para a análise estatística do perfil lipídico dos indivíduos incluídos no estudo, foram empregados o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, o

teste de Dunn e o teste não paramétrico de Mann-Whitney. A análise estatística da frequência dos alelos e genótipos de PON1-192QR, PON1-55LM, PON2-311SC e PON2-148AG foi realizada através do uso do teste de Qui-quadrado e do teste exato de Fisher. Para a análise da atividade basal da enzima PON1 foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. A análise estatística dos resultados de TBARS, da contagem de linfócitos T CD4+ e da carga viral foi realizada através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, do teste de Dunn, do teste de Spearman e do teste não paramétrico de Mann-Whitney.

Foram aplicados testes não-paramétricos, pois a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada. O nível de significância para os todos os testes empregados foi de 5%.

O programa estatístico empregado foi o SPSS 10.0.1 para Windows.

4. Resultados

4.1 Pacientes da Casa da AIDS (PACIENTES)

4.1.1 Níveis séricos de colesterol total, frações de colesterol, triglicérides, contagens de linfócitos T CD4+ e CD8+ e da carga viral no grupo de pacientes avaliados

A média $\pm$ desvio padrão do colesterol total (284 pacientes) foi 182,20 $\pm$ 41,52 mg/dL; da HDL-colesterol (281 pacientes) foi 48,63 $\pm$ 15,08 mg/dL; da LDL-colesterol (280 pacientes) foi 102,60 $\pm$ 34,97 mg/dL e da VLDL-colesterol (278 pacientes) foi 31,17 $\pm$ 14,19 mg/dL. Por sua vez, as medianas para estas determinações foram 181,00 mg/dL (colesterol total – valor mínimo: 76,00 mg/dL e máximo: 326,00 mg/dL), 47,00 mg/dL (HDL-colesterol – valor mínimo: 17,00 mg/dL e máximo: 102,00 mg/dL), 100,00 mg/dL (LDL-colesterol – valor mínimo: 31,00 mg/dL e máximo: 226,00 mg/dL) e 29,00 mg/dL (VLDL-colesterol – valor mínimo: 0 mg/dL e máximo: 79,00 mg/dL).

A média $\pm$ desvio padrão de triglicérides (260 pacientes) foi 183,20 $\pm$ 112,60 mg/dL, enquanto a mediana foi 152,00 mg/dL (valor mínimo: 44,00 mg/dL e valor máximo: 611,00 mg/dL).

As contagens de células CD4+, CD8+, bem como da carga viral (348 pacientes), apresentaram média $\pm$ desvio padrão de 524,50 $\pm$ 284,30 células/mm³; de 1003,43 $\pm$ 537,34 células/mm³ e de 79.944,00 $\pm$ 156.000,00 cópias/ml, respectivamente. A mediana para a contagem de CD4+ foi 499,00 células/mm³ (valor mínimo: 7,00 células/mm³ e valor máximo: 1609,00 células/mm³), para a de CD8+ foi 900,00 células/mm³ (valor mínimo: 93,00 células/mm³ e valor máximo: 4116,00 células/mm³) e

para a carga viral foi 24.900,00 cópias/ml (valor mínimo: 58,00 e valor máximo: 1.100.000,00 cópias/ml).

A tabela 3 ilustra os parâmetros lipídicos e as contagens de CD4+, CD8+ e carga viral dos pacientes.

Tabela 3 – Parâmetros lipídicos e contagens de células CD4+, CD8+ e da carga viral dos pacientes (valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo)

Parâmetro	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Colesterol total (mg/dL)	284	182,20	41,52	181,00	76,00	326,00
HDL (mg/dL)	281	48,63	15,08	47,00	17,00	102,00
LDL (mg/dL)	280	102,60	34,97	100,00	31,00	226,00
VLDL (mg/dL)	278	31,17	14,19	29,00	0	79,00
Triglicérides (mg/dL)	260	183,20	112,6	152,00	44,00	611,00
CD4+ (células/ mm ³)	348	524,50	284,3	499,00	7,00	1609,00
CD8+ (células/ mm ³)	348	1003,43	537,34	900,00	93,00	4116,00
Carga viral (cópias/ml)	111	79.944,00	156.000,00	24.900,00	58,00	1.100.000,00

4.1.2 Descrição individual da presença dos quatro polimorfismos nos pacientes avaliados

Nos 350 pacientes portadores de HIV que compuseram o grupo avaliado, foram estudadas as alterações PON1-192QR, PON1-55LM, PON2-311SC e PON2-148AG.

As frequências observadas para os alelos PON1-192R, PON1-55L, PON2-311S e PON2-148A foram de 36,43%, 57,86%, 65,57% e 76,43%, respectivamente. A tabela 4 ilustra estas frequências.

Tabela 4 – Frequências alélicas observadas nos pacientes para PON1-192R, PON1-192Q, PON1-55L, PON1-55Q, PON2-311S, PON2-311C, PON2-148A, PON2-148G (n=350)

Polimorfismo	Alelo	N	%
PON1-192QR	R	255	36,43
	Q	445	63,57
PON1-55LM	L	405	57,86
	M	295	42,14
PON2-311SC	S	459	65,57
	C	241	34,43
PON2-148AG	A	535	76,43
	G	165	23,57

4.1.3 Descrição da presença dos polimorfismos PON1-192Q/R e PON1-55L/M nos pacientes avaliados

O genótipo 192 QQ foi observado em 152 (43,43%) pacientes, dentre os quais 29 (19,08%) também apresentavam genótipo PON1-55LL, 64 (42,11%) o genótipo PON1-55LM e 59 (38,82%) o genótipo PON1-55MM.

O genótipo 192 QR foi detectado em 141 (40,29%) indivíduos, nos quais em 54 (38,30%) também foi observado genótipo PON1-55LL, em 77 (54,61%) o genótipo PON1-55LM e em 10 (7,09%) o genótipo PON1-55MM.

Por sua vez, o genótipo 192 RR foi identificado em 57 (16,29%) dos pacientes avaliados, sendo que 46 (80,70%) apresentavam o genótipo

PON1-55LL, 6 (10,53%) o genótipo PON1-55LM e 5 (8,77%) o genótipo PON1-55MM.

O genótipo PON155-LL foi, assim, observado em 129 (36,86%) dos 350 pacientes, o genótipo PON155-LM em 147 (42,00%) e o genótipo PON1-55MM em 74 (21,14%) deles.

A tabela 5 demonstra as freqüências dos genótipos de PON1-192 e de PON1-55, enquanto a tabela 6, por sua vez, apresenta as associações genotípicas entre PON1-192 e PON1-55 identificadas.

Tabela 5 – Freqüências observadas em pacientes para os possíveis genótipos de PON1-192 e PON1-55 (n=350)

Polimorfismo	Genótipo	N	%
PON1-192QR	QQ	152	43,40
	QR	141	40,30
	RR	57	16,30
PON1-55LM	LL	129	36,90
	LM	147	42,00
	MM	74	21,10

Tabela 6 - Associações de genótipos da PON1-192 e da PON1-55 nos pacientes avaliados (n=350)

Genótipo PON1-192	Total	%	Associação	N	%
QQ	152	43,43	QQLL	29	19,08
			QQLM	64	42,11
			QQMM	59	38,82
QR	141	40,29	QRLL	54	38,30
			QRLM	77	54,61
			QRMM	10	7,09
RR	57	16,29	RRLL	46	80,70
			RRLM	6	10,53
			RRMM	5	8,77
Total	350	100,00			

4.1.4 Determinação da atividade sérica basal da paraoxonase nos pacientes

A atividade basal da paraoxonase (atividade) foi determinada no soro dos 350 pacientes portadores de HIV avaliados, empregando-se o substrato paraoxon, sendo a média $\pm$ desvio padrão desta atividade enzimática geral $140,30 \pm 98,92$ e a mediana, 123,00 U/L (valores mínimo e máximo: 20,00 e 472,00 U/L). Os resultados individuais da determinação da atividade enzimática nos pacientes encontram-se dispostos no anexo G.

A média $\pm$ desvio padrão da atividade enzimática nos 152 indivíduos de genótipo PON1-192QQ foi $71,80 \pm 49,21$ U/L e a mediana, 59,00 U/L (valores mínimo e máximo: 20,00 e 329,00 U/L). Nos 141 indivíduos de genótipo PON1-192QR a média $\pm$ desvio padrão foi $161,80 \pm 73,53$ U/L e a mediana, 143,00 U/L (valores mínimo e máximo: 46,00 e 472,00 U/L) e nos 57 pacientes de genótipo PON1-192RR foi $269,50 \pm 100,20$ U/L e a mediana, 296,00 U/L (valores mínimo e máximo: 62,00 e 438,00 U/L).

A média $\pm$ desvio padrão da atividade da paraoxonase nos 129 indivíduos PON1-55LL foi $187,30 \pm 101,40$ U/L e a mediana foi 163,00 U/L (valores mínimo e máximo: 41,00 a 438,00 U/L). Nos 147 indivíduos PON1-55LM a média $\pm$ desvio padrão foi $123,30 \pm 86,43$ U/L e a mediana, 109,00 U/L (valores mínimo e máximo: 31,00 a 472,00 U/L). Nos 74 indivíduos com genótipo PON1-55MM foi $91,91 \pm 83,34$ U/L e a mediana, 57,00 U/L (valores mínimo e máximo: 20,00 a 413,00 U/L).

Em relação às combinações de genótipos PON1-192 e PON1-55, a média $\pm$ desvio padrão da atividade da enzima nos 29 pacientes com genótipo QQLL foi $98,24 \pm 58,92$ U/L, com mediana de 77,00 U/L (valores mínimo e máximo: 41,00 e 273,00 U/L), nos 64 pacientes de genótipo QQLM foi $64,22 \pm 38,54$ U/L, com mediana de 59,00 U/L (valores mínimo e máximo: 31,00 e 329,00 U/L) e nos 59 pacientes de genótipo QQMM foi $67,02 \pm 50,78$ U/L, com mediana de 49,00 U/L (valores mínimo e máximo: 20,00 e 312,00 U/L). Os 54 pacientes com genótipo QRLL apresentaram média $\pm$ DP de atividade enzimática de $163,90 \pm 59,53$ U/L, com mediana de 153,00 U/L (valores mínimo e máximo: 62,00 e 330,00 U/L); outros 77 com genótipo

QRLM demonstraram média $\pm$ DP de atividade paraoxonase de $159,90 \pm 77,80$ U/L, com mediana de 141,00 U/L (valores mínimo e máximo: 46,00 e 472,00 U/L) e nos 10 pacientes com genótipo QRMM, esta média $\pm$ DP foi $165,90 \pm 109,70$ U/L, com mediana de 133,50 U/L (valores mínimo e máximo: 71,00 e 413,00 U/L). Nos 46 pacientes com genótipo RRLL, a média $\pm$ desvio padrão foi $270,90 \pm 100,10$ U/L, com mediana de 297,00 U/L (valores mínimo e máximo: 62,00 e 438,00 U/L); nos 6 pacientes de genótipo RRLM a média $\pm$ desvio padrão foi $285,30 \pm 103,10$ U/L, com mediana de 305,00 U/L (valores mínimo e máximo: 136,00 e 390,00 U/L) e nos 5 pacientes com genótipo RRMM, a média $\pm$ DP foi $237,60 \pm 113,70$ U/L, com mediana de 196,00 U/L (valores mínimo e máximo: 109,00 e 394,00 U/L).

A tabela 7 apresenta a média, o desvio padrão, a mediana, bem como os valores mínimo e máximo determinados para a atividade da paraoxonase sérica, conforme o genótipo PON1-192 (QQ, QR ou RR) ou genótipo PON1-55 (LL, LM ou MM) dos pacientes. Na tabela 8, encontram-se estes mesmos dados relacionados às associações entre os genótipos PON1-192 e PON1-55.

Tabela 7 – Atividade da paraoxonase sérica (em U/L) por genótipo PON1-192 ou PON1 55 determinada no grupo de pacientes (n=350)

Polimorfismo	n	Genótipo	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
PON1-192	152	QQ	71,80	49,21	59,00	20,00	329,00
	141	QR	161,80	73,53	143,00	46,00	472,00
	57	RR	269,50	100,20	296,00	62,00	438,00
PON1-55	129	LL	187,30	101,40	163,00	41,00	438,00
	147	LM	123,30	86,43	109,00	31,00	472,00
	74	MM	91,91	83,34	57,00	20,00	413,00

Tabela 8 – Atividade da paraoxonase sérica (em U/L) por associação de genótipos PON1-192 e PON1-55 nos pacientes (n=350)

Genótipo	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
QQLL	29	98,24	58,92	77,00	41,00	273,00
QQLM	64	64,22	38,54	59,00	31,00	329,00
QQMM	59	67,02	50,78	49,00	20,00	312,00
QRLL	54	163,90	59,53	153,00	62,00	330,00
QRLM	77	159,90	77,80	141,00	46,00	472,00
QRMM	10	165,90	109,70	133,50	71,00	413,00
RRLl	46	270,90	100,10	297,00	62,00	438,00
RRLM	6	285,30	103,10	305,00	136,00	390,00
RRMM	5	237,60	113,70	196,00	109,00	394,00

4.1.5 Descrição da presença dos polimorfismos PON2-311SC e PON2-148AG nos pacientes avaliados

O genótipo PON2-311 SS foi observado em 186 (53,14%) pacientes, o genótipo PON2-311 SC em outros 87 (24,86%) e, por fim, em 77 (22,00%) pacientes foi detectado o genótipo PON2-311 CC.

O genótipo PON2-148AA foi detectado em 209 (59,71%) pacientes. Observou-se o genótipo PON2-148AG (heterozigoto) em 117 (33,43%) e o genótipo PON2-148GG (homozigoto mutado) em 24 (6,86%) dos 350 pacientes avaliados.

Os resultados individuais dos polimorfismos detectados no grupo composto pelos 350 pacientes são apresentados no anexo G.

A tabela 9 ilustra as frequências encontradas nos pacientes para os genótipos de PON2-311 e PON2-148.

Tabela 9 – Frequências observadas em pacientes para os possíveis genótipos de PON2-311 e PON2-148 (n=350)

Polimorfismo	Genótipo	N	%
PON2-311SC	SS	77	22,00
	SC	87	24,86
	CC	186	53,14
PON2-148AG	AA	209	59,71
	AG	117	33,43
	GG	24	6,86

Na tabela 10 é demonstrado um resumo das frequências observadas para os quatro polimorfismos estudados nos pacientes (n=350).

Tabela 10 - Resumo das frequências dos genótipos PON1-192, PON1-55, PON1-311 e PON1-148 observados nos 350 pacientes avaliados

Polimorfismo	Genótipo	N	%
PON1-192QR	QQ	152	43,40
	QR	141	40,30
	RR	57	16,30
PON1-55LM	LL	129	36,90
	LM	147	42,00
	MM	74	21,10
PON2-311SC	SS	77	22,00
	SC	87	24,86
	CC	186	53,14
PON2-148AG	AA	209	59,71
	AG	117	33,43
	GG	24	6,86

4.1.6 Reação ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) no grupo de pacientes

A degradação oxidativa de ácidos graxos presentes no plasma de 288 pacientes da Casa da AIDS, avaliada por TBARS, apresentou média $\pm$ desvio padrão de $2,31 \pm 1,98$ e mediana de 2,06 nmoles de MDA por ml de plasma (nmoles/ml). Os valores mínimo e máximo aqui determinados foram 0,15 e 28,53 nmoles/ml, respectivamente. Em 62 pacientes deste grupo o material biológico foi insuficiente para a realização deste ensaio. Os

resultados individuais da determinação de TBARS (em nmoles/ml) no grupo de pacientes estão dispostos no anexo J.

4.2 Portadores de HIV ao diagnóstico (PORT HIV)

4.2.1 Níveis séricos de colesterol total, frações de colesterol e triglicérides no grupo de portadores de HIV ao diagnóstico avaliados

A média $\pm$ desvio padrão do colesterol total foi $164,80 \pm 29,97$ mg/dL; da HDL-colesterol foi $41,41 \pm 10,95$ mg/dL; da LDL-colesterol foi $98,22 \pm 25,25$ mg/dL e da VLDL-colesterol foi $23,44 \pm 14,13$ mg/dL. Por sua vez, as medianas para estas determinações foram 170,50 mg/dL (colesterol total – valor mínimo: 97,00 mg/dL e máximo: 235,00 mg/dL), 39,50 mg/dL (HDL-colesterol – valor mínimo: 27,00 mg/dL e máximo: 69,00 mg/dL), 94,00 mg/dL (LDL-colesterol – valor mínimo: 47,00 mg/dL e máximo: 143,00 mg/dL) e 19,00 mg/dL (VLDL-colesterol – valor mínimo: 9,00 mg/dL e máximo: 74,00 mg/dL).

A média $\pm$ desvio padrão de triglicérides foi $117,20 \pm 70,40$ mg/dL, enquanto a mediana foi 94,50 mg/dL (valor mínimo: 47,00 mg/dL e valor máximo: 368,00 mg/dL).

A tabela 11 apresenta os parâmetros lipídicos determinados para o grupo de portadores de HIV ao diagnóstico.

Tabela 11 – Parâmetros lipídicos (valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo) determinados no grupo de portadores de HIV ao diagnóstico (n=32)

Parâmetro	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Colesterol total (mg/dL)	32	164,80	29,97	170,50	97,00	235,00
HDL (mg/dL)	32	41,41	10,95	39,50	27,00	69,00
LDL (mg/dL)	32	98,22	25,25	94,00	47,00	143,00
VLDL (mg/dL)	32	23,44	14,13	19,00	9,00	74,00
Triglicérides (mg/dL)	32	117,20	70,40	94,50	47,00	368,00

4.2.2 Descrição individual da presença dos quatro polimorfismos nos portadores de HIV ao diagnóstico

Foram avaliados os polimorfismos PON1-192, PON2-311 e PON2-148 no grupo composto pelos 32 portadores de HIV ao diagnóstico.

Ressalta-se que este grupo foi diagnosticado como sendo portador do vírus HIV ao doarem sangue, não estando disponíveis à época dados sobre contagens de células CD4+, CD8+ e carga viral.

Desta forma, as frequências observadas para os alelos PON1-192R, PON1-55L, PON2-311S e PON2-148A foram de 37,50%, 51,56%, 81,25% e 68,75%.

A tabela 12 ilustra as frequências para estes alelos referentes ao grupo de portadores de HIV ao diagnóstico.

Tabela 12– Freqüências observadas nos portadores de HIV ao diagnóstico para os alelos PON1-192R, PON1-192Q, PON1-55L, PON1-55M, PON2-311S, PON2-311C, PON2-148A e PON2-148G (n=32)

Polimorfismo	Alelo	N	%
PON1-192QR	R	24	37,50
	Q	40	62,50
PON1-55LM	L	33	51,56
	M	31	48,44
PON2-311SC	S	52	81,25
	C	12	18,75
PON2-148AG	A	44	68,75
	G	20	31,25

4.2.3 Descrição da presença dos polimorfismos PON1-192Q/R e PON1-55L/M nos portadores de HIV ao diagnóstico avaliados

Observou-se o genótipo PON1-192 QQ em 13 (40,63%) portadores de HIV ao diagnóstico, dentre os quais 3 (23,08%) também apresentavam genótipo PON1-55LL, 4 (30,77%) também o genótipo PON1-55LM e outros 6 (46,15%), o genótipo PON1-55MM.

O genótipo PON1-192 QR foi detectado em 14 (43,75%), nos quais em 5 (35,71%) também foi observado genótipo PON1-55LL, em 5 (35,71%) o genótipo PON1-55LM e em 4 (28,57%) o genótipo PON1-55MM.

Por sua vez, o genótipo PON1-192 RR foi identificado em 5 (15,63%) dos pacientes avaliados, sendo que 4 (80,00%) apresentavam o genótipo

PON1-55LL e 1 (20,00%) o genótipo PON1-55MM. Não foi aqui observado o genótipo PON1-55LM.

O genótipo PON155-LL foi, assim, observado em 12 (37,50%) dos 32 portadores de HIV ao diagnóstico, o genótipo PON155-LM em 9 (28,13%) e o genótipo PON1-55MM em outros 11 (34,38%).

A tabela 13 demonstra as frequências dos genótipos de PON1-192 e de PON1-55, enquanto a tabela 14, por sua vez, apresenta as associações genotípicas entre PON1-192 e PON1-55 identificadas no grupo de portadores de HIV ao diagnóstico.

Tabela 13 – Frequências observadas no grupo de portadores de HIV ao diagnóstico para os possíveis genótipos de PON1-192 e PON1-55 (n=32)

Polimorfismo	Genótipo	N	%
PON1-192QR	QQ	13	40,63
	QR	14	43,75
	RR	5	15,63
PON1-55LM	LL	12	37,50
	LM	9	28,13
	MM	11	34,38

Tabela 14: Associações de genótipos da PON1-192 e da PON1-55 nos portadores de HIV ao diagnóstico avaliados (n=32)

Genótipo PON1-192	Total	%	Associação	N	%
QQ	13	40,63	QQLL	3	23,08
			QQLM	4	30,77
			QQMM	6	46,15
QR	14	43,75	QRLL	5	35,71
			QRLM	5	35,71
			QRMM	4	28,57
RR	5	15,63	RRLL	4	80,00
			RRLM	0	0
			RRMM	1	20,00
Total	32	100,00			

4.2.4 Determinação da atividade sérica basal da paraoxonase nos portadores de HIV ao diagnóstico

Foi determinada a atividade basal da paraoxonase (atividade) no soro dos 32 portadores de HIV ao diagnóstico avaliados, empregando-se como substrato o paraoxon. Neste grupo, a média $\pm$ desvio padrão da atividade enzimática geral foi $153,70 \pm 123,20$ e a mediana foi 123,00 U/L (valores mínimo e máximo: 42,00 e 551,00 U/L). Os resultados individuais da determinação da atividade enzimática no grupo de portadores de HIV ao diagnóstico encontram-se dispostos no anexo H.

A média $\pm$ desvio padrão da atividade enzimática nos 13 indivíduos de genótipo PON1-192QQ foi $78,50 \pm 37,30$ U/L e a mediana, 67,00 U/L (valores mínimo e máximo: 47,00 e 178,00 U/L); nos 14 indivíduos de genótipo PON1-192QR foi $158,50 \pm 71,10$ U/L e a mediana, 142,00 U/L (valores mínimo e máximo: 42,00 e 319,00 U/L) e nos 5 portadores de HIV ao diagnóstico com genótipo PON1-192RR foi $320,60 \pm 204,30$ U/L, com mediana de 320,00 U/L (valores mínimo e máximo: 79,00 e 551,00 U/L).

A média $\pm$ desvio padrão da atividade da paraoxonase nos 12 portadores de HIV ao diagnóstico PON1-55LL foi $216,60 \pm 164,50$ U/L e a mediana foi 160,00 U/L (valores mínimo e máximo: 80,00 a 551,00 U/L), nos 9 indivíduos PON1-55LM foi $143,60 \pm 91,60$ U/L e a mediana foi 123,00 U/L (valores mínimo e máximo: 42,00 a 319,00 U/L) e nos 11 indivíduos PON1-55MM foi $99,00 \pm 63,54$ U/L, com mediana de 72,00 U/L (valores mínimo e máximo: 47,00 a 255,00 U/L).

Em relação às combinações de genótipos PON1-192 e PON1-55, a média $\pm$ desvio padrão da atividade da enzima nos 3 portadores de HIV ao diagnóstico de genótipo QQLL foi $101,00 \pm 29,70$ U/L, com mediana de 101,00 U/L (valores mínimo e máximo: 80,00 e 122,00 U/L), nos 4 portadores de HIV ao diagnóstico de genótipo QQLM foi $99,50 \pm 53,19$ U/L, com mediana de 78,50 U/L (valores mínimo e máximo: 63,00 e 178,00 U/L) e nos 6 portadores de HIV ao diagnóstico de genótipo QQMM foi $57,00 \pm 8,76$ U/L, com mediana de 56,50 U/L (valores mínimo e máximo: 47,00 e 72,00 U/L). Os 5 portadores de HIV ao diagnóstico com genótipo QRLL apresentaram média $\pm$ DP de atividade enzimática de $131,40 \pm 33,68$ U/L,

com mediana de 135,00 U/L (valores mínimo e máximo: 84,00 e 164,00 U/L); os outros 5 com genótipo QRLM demonstraram média $\pm$ DP de atividade paraoxonase de $178,80 \pm 105,66$ U/L, com mediana de 175,00 U/L (valores mínimo e máximo: 42,00 e 319,00 U/L) e, por fim, nos 4 portadores de HIV ao diagnóstico com genótipo QRMM, esta média $\pm$ DP foi $167,00 \pm 59,19$ U/L, com mediana de 142,00 U/L (valores mínimo e máximo: 129,00 e 255,00 U/L). Nos 4 portadores de HIV ao diagnóstico com genótipo RRLL, a média $\pm$ desvio padrão foi $381,00 \pm 177,02$ U/L, com mediana de 406,50 U/L (valores mínimo e máximo: 160,00 e 551,00 U/L). Apenas 1 indivíduo com genótipo RRMM foi identificado, o qual apresentou atividade enzimática de 79,00 U/L. Não foi observada a combinação de genótipos RRLM no grupo de 32 portadores de HIV ao diagnóstico avaliado.

A tabela 15 apresenta a média, o desvio padrão, a mediana, bem como os valores mínimo e máximo determinados para a atividade da paraoxonase sérica, conforme o genótipo PON1-192 (QQ, QR ou RR) ou genótipo PON1-55 (LL, LM ou MM) dos portadores de HIV ao diagnóstico. Na tabela 16, encontram-se estes mesmos dados relacionados às associações entre os genótipos PON1-192 e PON1-55.

Tabela 15 – Atividade da paraoxonase sérica (em U/L) por genótipos PON-192 ou PON1-55 nos portadores de HIV ao diagnóstico (n=32)

Polimorfismo	n	Genótipo	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
PON1-192	13	QQ	78,50	37,30	67,00	47,00	178,00
	14	QR	158,50	71,10	142,00	42,00	319,00
	5	RR	320,60	204,30	320,00	79,00	551,00
PON1-55	12	LL	216,60	164,50	160,00	80,00	551,00
	9	LM	143,60	91,60	123,00	42,00	319,00
	11	MM	99,00	63,54	72,00	47,00	255,00

Tabela 16 – Atividade da paraoxonase sérica por associação de genótipos PON1-192 e PON1-55 nos portadores ao diagnóstico (n=32)

Genótipo	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
QQLL	3	101	29,70	101,00	80,00	122,00
QQLM	4	99,50	53,19	78,50	63,00	178,00
QQMM	6	57,00	8,76	56,50	47,00	72,00
QRLL	5	131,40	33,68	135,00	84,00	164,00
QRLM	5	178,8	105,66	175,00	42,00	319,00
QRMM	4	167,00	59,19	142,00	129,00	255,00
RRLL	4	381,00	177,02	406,50	160,00	551,00
RRLM	0	0	0	0	0	0
RRMM	1	79,00	0	79,00	79,00	79,00

4.2.5 Descrição da presença dos polimorfismos PON2-311SC e PON2-148AG nos portadores ao diagnóstico avaliados

Foi observado o genótipo SS em 25 (78,13%) portadores de HIV ao diagnóstico, o genótipo SC em 2 pacientes (6,25%) e, por fim, em 5 (15,63%) pacientes foi detectado o genótipo CC.

O genótipo PON2-148AA foi detectado em 17 (53,13%) pacientes. Observou-se o genótipo PON2-148AG (heterozigoto) em 10 (31,25) e o genótipo PON2-148GG (homozigoto mutado) em 5 (15,63%) dos 32 portadores de HIV ao diagnóstico avaliados.

Os resultados individuais dos polimorfismos detectados no grupo composto pelos 32 portadores de HIV ao diagnóstico são apresentados no anexo H. A tabela 17 ilustra as frequências encontradas nos portadores de HIV ao diagnóstico para os genótipos de PON2-311 e de PON2-148.

Tabela 17 – Frequências observadas em portadores de HIV ao diagnóstico para os possíveis genótipos de PON2-311 e PON2-148 (n=32)

Polimorfismo	Genótipo	N	%
PON2-311SC	SS	25	78,13
	SC	2	6,25
	CC	5	15,63
PON2-148AG	AA	17	53,13
	AG	10	31,25
	GG	5	15,63

Na tabela 18 é demonstrado um resumo das frequências observadas para os quatro polimorfismos estudados nos portadores de HIV ao diagnóstico (n=32).

Tabela 18 - Resumo das frequências dos genótipos PON1-192, PON1-55 PON1-311 e PON1-148 encontrados nos portadores ao diagnóstico avaliados (n=32)

Polimorfismo	Genótipo	N	%
PON1-192QR	QQ	13	40,63
	QR	14	43,75
	RR	5	15,63
PON1-55LM	LL	12	37,50
	LM	9	28,13
	MM	11	34,38
PON2-311SC	SS	25	78,13
	SC	2	6,25
	CC	5	15,63
PON2-148AG	AA	17	53,13
	AG	10	31,25
	GG	5	15,63

4.2.6 Reação ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) no grupo de portadores de HIV ao diagnóstico

O plasma de 25 componentes deste grupo foi avaliado quanto a degradação oxidativa de ácidos graxos, também por TBARS, apresentando

média $\pm$ desvio padrão de $2,20 \pm 1,00$ e mediana de 2,04 nmoles de MDA por ml de plasma (nmoles/ml). Os valores mínimo e máximo aqui determinados foram 0,93 e 5,24 nmoles/ml, respectivamente. Em 7 indivíduos deste grupo o material biológico foi insuficiente para a realização deste ensaio. Os resultados individuais da determinação do TBARS no grupo de portadores de HIV ao diagnóstico são relacionados no anexo K.

4.3 Indivíduos Saudáveis

4.3.1 Níveis séricos de colesterol total, frações de colesterol, triglicérides nos indivíduos saudáveis avaliados

Para o grupo de 179 indivíduos saudáveis avaliados, a média $\pm$ desvio padrão do colesterol total foi $176,60 \pm 42,05$ mg/dL e a mediana foi 175,00 mg/dL (valor mínimo: 90,00 mg/dL e valor máximo: 369,00 mg/dL); da HDL-colesterol foi $39,94 \pm 11,07$ mg/dL e a mediana foi 39,00 mg/dL (valor mínimo: 20,00 mg/dL e valor máximo: 97,00 mg/dL) e da LDL-colesterol foi $105,90 \pm 37,52$ mg/dL e a mediana, 99,00 mg/dL (valor mínimo: 33,00 mg/dL e valor máximo: 260,00 mg/dL).

A média $\pm$ desvio padrão de triglicérides, por sua vez, foi $149,50 \pm 91,16$ mg/dL e a mediana foi 126,00 mg/dL (valor mínimo: 38,00 mg/dL e valor máximo: 562,00 mg/dL).

A tabela 19 ilustra os parâmetros lipídicos dos indivíduos saudáveis, bem como apresenta novamente os valores observados nos pacientes.

Tabela 19 – Parâmetros lipídicos (valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo) dos indivíduos saudáveis (n=179)

Parâmetro	Média	DP	Valor Mínimo	Mediana	Valor máximo
Colesterol total (mg/dL)	176,60	42,05	90,00	175,00	369,00
HDL (mg/dL)	39,94	11,07	20,00	39,00	97,00
LDL (mg/dL)	105,90	37,52	33,00	99,00	260,00
VLDL (mg/dL)	--		--	--	--
Triglicérides (mg/dL)	149,50	91,16	38,00	126,00	562,00

4.3.2 Descrição individual da presença das quatro alterações nos indivíduos saudáveis avaliados

Os polimorfismos PON1-192QR, PON2-311SC e PON2-148AG foram avaliados nos 179 doadores de sangue que compuseram a população saudável (controle).

As frequências observadas para os alelos PON1-192R, PON1-55L, PON2-311S e PON2-148A, nos indivíduos saudáveis foram de 43,02%, 68,99%, 67,60% e 75,14%, respectivamente, sendo que a tabela 20 ilustra estas frequências.

Tabela 20 – Frequências alélicas observadas em indivíduos saudáveis para PON1-192R, PON1-192Q, PON1-55L, PON1-55M, PON2-311S, PON2-311C, PON2-148A e PON2-148G (n=179)

Polimorfismo	Alelo	N	%
PON1-192QR	R	154	43,02
	Q	204	56,98
PON1-55LM	L	247	68,99
	M	111	31,01
PON2-311SC	S	242	67,60
	C	116	32,40
PON2-148AG	A	269	75,14
	G	89	24,86

4.3.3 Descrição da presença do polimorfismo PON1-192Q/R nos indivíduos saudáveis avaliados

Observou-se o genótipo PON1-192 QQ em 58 (32,40%) indivíduos saudáveis, dos quais 12 (20,69%) apresentavam o genótipo PON1-55LL, 34 (58,62%) o genótipo PON1-55LM e 12 (20,69%) o genótipo PON1-55MM.

O genótipo PON1-192 QR foi detectado em 88 (49,16%) indivíduos saudáveis, dentre os quais 44 (50,00%) também apresentavam genótipo PON1-55LL, 41 (46,59%) o genótipo PON1-55LM e 3 (3,41%), o genótipo PON1-55MM.

Por sua vez, o genótipo PON1-192 RR foi identificado em 33 (18,44%) dos indivíduos saudáveis avaliados, sendo que em 27 (81,82%) destes foi

observado o genótipo PON1-55LL e em outros 6 (18,18%), o genótipo PON1-55LM. Não foi identificada nesta amostra de indivíduos saudáveis a combinação de genótipos PON1-192RR com PON1-55MM.

O genótipo PON1-55 LL, desta forma, foi observado em 83 (46,37%) indivíduos saudáveis, o genótipo PON1-55 LM em 81 (45,25%) e o genótipo PON1-55 MM, identificado em outros 15 (8,38%) indivíduos saudáveis.

A tabela 21 apresenta as frequências observadas nos indivíduos saudáveis para os genótipos PON1-192 e PON1-55, enquanto que a tabela 22, por sua vez, apresenta as associações de genótipos PON1-192 e PON1-55 identificadas.

Tabela 21 – Frequências observadas nos indivíduos saudáveis para os possíveis genótipos de PON1-192 e PON1-55 (n=179)

Polimorfismo	Genótipo	N	%
PON1-192QR	QQ	58	32,40
	QR	88	49,16
	RR	33	18,44
PON1-55LM	LL	83	46,37
	LM	81	45,25
	MM	15	8,38

Tabela 22: Associações de genótipos de PON1-192QR e de PON1-55LM nos indivíduos saudáveis avaliados (n=179)

Genótipo PON1-192	Total	%	Associação	N	%
QQ	58	32,40	QQLL	12	20,69
			QQLM	34	58,62
			QQMM	12	20,69
QR	88	49,16	QRLL	44	50,00
			QRLM	41	46,59
			QRMM	3	3,41
RR	33	18,44	RRLL	27	15,08
			RRLM	6	18,18
			RRMM	0	0
Total	179	100,00			

4.3.4 Determinação da atividade sérica da paraoxonase nos indivíduos saudáveis

A atividade da paraoxonase foi determinada no soro dos 179 indivíduos saudáveis avaliados, empregando-se o substrato paraoxon, sendo a média $\pm$ desvio padrão da atividade enzimática geral $124,90 \pm 81,46$ e a mediana, 107,00 U/L (valores mínimo e máximo: 10,00 e 412,00 U/L). Os resultados individuais da determinação da atividade enzimática nos indivíduos saudáveis encontram-se dispostos no anexo H.

A média $\pm$ desvio padrão da atividade enzimática nos 58 indivíduos de genótipo PON1-192QQ foi $54,45 \pm 25,92$ U/L e a mediana foi 53,00 U/L (valores mínimo e máximo: 10,00 e 202,00 U/L); nos outros 88 de genótipo

PON1-192QR foi $139,30 \pm 52,98$ U/L e a mediana foi 131,50 U/L (valores mínimo e máximo: 28,00 e 290,00 U/L) e nos 33 indivíduos saudáveis de genótipo PON1-192RR foi $210,20 \pm 104,90$ U/L, com mediana de 216,00 U/L (valores mínimo e máximo: 33,00 e 412,00 U/L).

A média $\pm$ desvio padrão da atividade da paraoxonase nos 83 indivíduos saudáveis de genótipo PON1-55LL foi $164,80 \pm 89,29$ U/L, sendo a mediana 152,00 U/L (valores mínimo e máximo: 25,00 e 412,00 U/L), nos 81 indivíduos saudáveis PON1-55LM foi $91,74 \pm 52,47$ U/L, com mediana igual a 77,00 U/L (valores mínimo e máximo: 10,00 a 277,00 U/L) e nos 15 indivíduos PON1-55MM foi $82,93 \pm 65,17$ U/L e a mediana 53,00 U/L (valores mínimo e máximo: 33,00 e 243,00 U/L).

Em relação às combinações de genótipos PON1-192 e PON1-55, a média $\pm$ desvio padrão da atividade da enzima nos 12 indivíduos saudáveis com genótipo QQLL foi $58,75 \pm 21,60$ U/L, com mediana de 68,00 U/L (valores mínimo e máximo: 25,00 e 83,00 U/L), nos 34 indivíduos saudáveis com genótipo QQLM foi $50,56 \pm 16,38$ U/L e a mediana, 52,50 U/L (valores mínimo e máximo: 10,00 e 96,00 U/L) e nos 12 indivíduos saudáveis com genótipo QQMM foi $61,17 \pm 45,74$ U/L, sendo a mediana igual a 50,00 U/L (valores mínimo e máximo: 33,00 e 202,00 U/L). Os 44 indivíduos saudáveis com genótipo QRLL apresentaram média $\pm$ desvio padrão de atividade enzimática de $156,23 \pm 52,95$ U/L e mediana de 150,00 U/L (valores mínimo e máximo: 64,00 e 290,00 U/L); os 41 indivíduos saudáveis com genótipo QRLM apresentaram média $\pm$ desvio padrão de atividade enzimática de $118,88 \pm 43,04$ U/L, com mediana de 124,00 U/L (valores mínimo e máximo:

28,00 a 222,00 U/L) e nos 3 indivíduos saudáveis com genótipo QRMM, esta média $\pm$ desvio padrão foi 170,00 $\pm$ 63,32 U/L e a mediana foi 137,00 U/L (valores mínimo e máximo: 130,00 a 243,00 U/L).

Os 27 indivíduos saudáveis com genótipo RRLM apresentaram média $\pm$ desvio padrão de atividade enzimática de 225,89 $\pm$ 105,46 U/L e mediana de 226,00 U/L (valores mínimo e máximo: 33,00 a 412,00 U/L) e os 6 indivíduos saudáveis com genótipo RRLM apresentaram média $\pm$ desvio padrão de atividade enzimática de 139,66 $\pm$ 72,92 U/L, com mediana igual a 127,50 U/L (valores mínimo e máximo: 71,00 a 277,00 U/L). Não foi observada a combinação de genótipos RRMM no grupo de indivíduos saudáveis avaliado.

A tabela 23 apresenta as médias e o desvio padrão, bem como os valores mínimo e máximo determinados para a atividade da paraoxonase sérica, conforme o genótipo PON1-192 (QQ, QR ou RR).

Tabela 23 – Atividade da paraoxonase sérica (em U/L) por genótipo PON-192 ou PON1-55 determinada nos indivíduos saudáveis (n=179)

Polimorfismo	N	Genótipo	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
PON1-192	58	QQ	54,45	25,92	53,00	10,00	202,00
	88	QR	139,30	52,98	131,50	28,00	290,00
	33	RR	210,20	104,90	216,00	33,00	412,00
PON1-55	83	LL	164,80	89,29	152,00	25,00	412,00
	81	LM	91,74	52,47	77,00	10,00	277,00
	15	MM	82,93	65,17	53,00	33,00	243,00

Na tabela 24, encontram-se estes mesmos dados relacionados às associações entre os genótipos PON1-192 e PON1-55.

Tabela 24 – Atividade da paraoxonase sérica (em U/L) por associação de genótipos PON1-192 e PON1-55 nos indivíduos saudáveis (n=179)

Genótipo	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
QQLL	12	58,75	21,60	68,00	25,00	83,00
QQLM	34	50,56	16,38	52,50	10,00	96,00
QQMM	12	61,17	45,74	50,00	33,00	202,00
QRLL	44	156,23	52,95	150,00	64,00	290,00
QRLM	41	118,88	43,04	124,00	28,00	222,00
QRMM	3	170,00	63,32	137,00	130,00	243,00
RRLL	27	225,89	105,46	226,00	33,00	412,00
RRLM	6	139,66	72,92	127,50	71,00	277,00
RRMM	0	0	0	0	0	0

4.3.5 Descrição da presença dos polimorfismos PON2-311SC e PON2-148AG nos indivíduos saudáveis avaliados

Na população saudável, o genótipo SS foi observado em 74 (41,34%) indivíduos, o genótipo SC em outros 94 indivíduos saudáveis (52,51%) e em 11 (6,15%) indivíduos saudáveis foi detectado o genótipo CC.

O genótipo PON2-148AA foi detectado em 97 (54,19%) indivíduos saudáveis. Observou-se o genótipo PON2-148AG (heterozigoto) em 75 (41,90%) e o genótipo PON2-148GG (homozigoto mutado) em 7 (3,91%) dos 179 indivíduos saudáveis avaliados.

A tabela 25 apresenta as frequências observadas para os polimorfismos PON2-311 e PON2-148 no grupo de doadores de sangue avaliados.

Tabela 25 – Frequências observadas em indivíduos saudáveis para os possíveis genótipos de PON2-311 e PON2-148 (n=179)

Polimorfismo	Genótipo	N	%
PON2-311SC	SS	74	41,34
	SC	94	52,51
	CC	11	6,15
PON2-148AG	AA	97	54,19
	AG	75	41,90
	GG	7	3,91

Os resultados individuais dos polimorfismos detectados no grupo composto pelos 179 indivíduos saudáveis são apresentados no anexo I.

A tabela 26 demonstra, resumidamente, as frequências observadas nos doadores para os quatro polimorfismos estudados (n=179).

Tabela 26 - Resumo das frequências dos genótipos PON1-192, PON1-55, PON1-311 e PON1-148 encontrados nos indivíduos saudáveis avaliados (n=179)

Polimorfismo	Genótipo	N	%
PON1-192QR	QQ	58	32,40
	QR	88	49,16
	RR	33	18,44
PON1-55LM	LL	83	46,37
	LM	81	45,25
	MM	15	8,38
PON2-311SC	SS	74	41,34
	SC	94	52,51
	CC	11	6,15
PON2-148AG	AA	97	54,19
	AG	75	41,90
	GG	7	3,91

4.4 Análise estatística

4.4.1 Do perfil lipídico dos grupos avaliados

A tabela 27 ilustra o comparativo para os valores de colesterol total (em mg/dL) entre os 3 grupos (pacientes da casa da AIDS, portadores de HIV ao diagnóstico e indivíduos saudáveis).

Tabela 27 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da determinação de colesterol total (em mg/dL) para os grupos avaliados (n=495)

Grupo	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p(*)
PACIENTES	284	182,20	41,52	181,00	76,00	326,00	
PORT HIV	32	164,80	29,97	170,50	97,00	235,00	0,029
SAUDÁVEIS	179	176,60	42,05	175,00	90,00	369,00	

(*) teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

Observa-se que os grupos diferem quanto ao colesterol total. O grupo de portadores de HIV da Casa da AIDS difere de maneira significativa do grupo de portadores de HIV ao diagnóstico (teste de Dunn, $p < 0,05$), apresentando valor significativamente maior.

Na tabela 28 é apresentada a comparação dos valores de HDL-colesterol (em mg/dL) entre os 3 grupos (n=492).

Tabela 28 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da determinação de HDL-colesterol (em mg/dL) para os grupos avaliados (n=492)

Grupo	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p(*)
PACIENTES	281	48,63	15,08	47,00	17,00	102,00	
PORT HIV	32	41,41	10,95	39,50	27,00	69,00	<0,001
SAUDÁVEIS	179	39,94	11,07	39,00	20,00	97,00	

(*) teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

Também em relação às quantidades de HDL-colesterol foram observadas diferenças entre os grupos, sendo que o grupo dos pacientes da

Casa da AIDS difere de modo significativo dos outros (teste de Dunn, $p < 0,05$), apresentando valor significativamente maior.

A comparação entre os valores determinados nos grupos para a LDL-colesterol foi realizada pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, promovendo valor de $p = 0,686$. A tabela 29 apresenta estes valores ($n = 491$).

Tabela 29 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da determinação de LDL-colesterol (em mg/dL) para os grupos avaliados ($n = 491$)

Grupo	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p(*)
PACIENTES	280	102,60	34,97	100,00	31,00	226,00	
PORT HIV	32	98,22	25,25	94,00	47,00	143,00	0,686
SAUDÁVEIS	179	105,90	37,52	99,00	33,00	260,00	

(*) teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

Observa-se, assim, que os grupos não apresentaram diferença significativa em relação à fração LDL-colesterol.

A fração de colesterol VLDL foi comparada somente entre os grupos de pacientes da Casa da AIDS e portadores de HIV ao diagnóstico, dada a situação de jejum. Na tabela 30, encontram-se dispostos os dados referentes à determinação de VLDL-colesterol nestes 2 grupos ($n = 310$), observando-se que estes diferiram quanto a esta fração de colesterol. O grupo de portadores de HIV da Casa da AIDS apresentou valores significativamente maiores, conforme teste não-paramétrico de Mann-Whitney ($p < 0,001$).

Tabela 30 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da determinação de VLDL-colesterol (em mg/dL) para os grupos avaliados ($n = 310$)

Grupo	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p(*)
PACIENTES	278	31,17	14,19	29,00	0	79,00	<0,001
PORT HIV	32	23,44	14,13	19,00	9,00	74,00	

(*) teste não-paramétrico de Mann-Whitney

A comparação dos valores das determinações de triglicérides nos três grupos avaliados foi realizada através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, apresentando $p < 0,001$. Na tabela 31, são apresentados os valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo da determinação de triglicérides (em mg/dL) de 471 indivíduos.

Tabela 31 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da determinação de triglicérides (em mg/dL) para os grupos avaliados (n=471)

Grupo	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p(*)
PACIENTES	260	183,20	112,60	152,00	44,00	611,00	
PORT HIV	32	117,20	70,40	94,50	47,00	368,00	<0,001
SAUDÁVEIS	179	149,50	91,16	126,00	38,00	562,00	

(*) teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

Os grupos diferiram em relação as quantidades de triglicérides, observando-se que o grupo de pacientes da Casa da AIDS difere de modo significativo dos outros dois, apresentando valor significativamente maior (teste de Dunn, $p < 0,05$).

4.4.2 Da frequência dos genótipos PON1-192 e PON1-55 nos grupos avaliados

4.4.2.1 Polimorfismo PON1-192QR

Pelo teste de qui-quadrado nota-se que os grupos não diferem quanto a distribuição dos genótipos e de alelos. As tabela 32 e 33 ilustram estes resultados.

Tabela 32 – Frequência dos alelos de PON1-192Q e PON1-192R nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561)

Genótipo	PACIENTES	PORT HIV	SAUDÁVEIS	Total	p(*)
Q (n)	445	40	204	689	0,112
(%)	63,57	62,50	56,98		
R (n)	255	24	154	433	
(%)	36,43	37,50	43,02		
Total	700	64	358	1122	

(*) teste de Qui-quadrado

Tabela 33 – Frequência dos possíveis genótipos de PON1-192QR nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561)

Genótipo	PACIENTES	PORT HIV	SAUDÁVEIS	Total	p(*)
QQ (n)	152	13	58	223	0,189
(%)	43,43	40,63	32,40		
QR (n)	141	14	88	243	
(%)	40,29	43,75	49,16		
RR (n)	57	5	33	95	
(%)	16,29	15,63	18,44		
Total	350	32	179	561	

(*) teste de Qui-quadrado

4.4.2.2 Polimorfismo PON1-55LM

O teste de qui-quadrado demonstra haver associação entre os genótipos deste polimorfismo e os grupos estudados. O grupo de pacientes e o de portadores de HIV ao diagnóstico não diferem entre si ($p=0,0323$), mas apresentaram percentual de casos significativamente menor do que o grupo de saudáveis ($p=0,002$). As tabelas 34 e 35 ilustram estes resultados.

Tabela 34 – Frequência dos alelos PON1-55L e PON1-55M nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561)

Genótipo	PACIENTES	PORT HIV	SAUDÁVEIS	Total	p(*)
L (n)	405	33	247	685	0,001
(%)	57,86	51,56	68,99		
M (n)	295	31	111	437	
(%)	42,14	48,44	31,01		
Total	700	64	358	1122	

(*) teste de Qui-quadrado

Tabela 35 – Frequência dos possíveis genótipos de PON1-55LM nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561)

Genótipo	PACIENTES	PORT HIV	SAUDÁVEIS	Total	p(*)
LL (n)	129	12	83	224	<0,001
(%)	36,86	37,50	46,37		
LM (n)	147	9	81	237	
(%)	42,00	28,13	45,25		
MM (n)	74	11	15	100	
(%)	21,14	34,38	8,38		
Total	350	32	179	561	

(*) teste de Qui-quadrado

4.4.2.3 Combinação de genótipos PON1-192QR e PON1-55LM

Empregando-se o teste de qui-quadrado, observou-se associação entre a combinação dos genótipos de PON1-192QR e PON1-55LM nos grupos de pacientes da Casa da AIDS ($p=0,001$) e nos indivíduos saudáveis

($p < 0,001$). Através do teste exato de Fisher demonstrou-se que no grupo dos 32 portadores ao diagnóstico não houve esta associação ($p = 0,297$). As tabelas 36, 37 e 38 apresentam estes resultados.

Tabela 36 – Combinação de genótipos PON1-192QR e PON1-55LM nos pacientes avaliados (n=350)

PON1192/55	LL	LM	MM	Total	p(*)
QQ (n)	29	64	59	152	
(%)	19,08	42,11	38,82	43,43	
QR (n)	54	77	10	141	0,001
(%)	38,30	54,61	7,09	40,29	
RR (n)	46	6	5	57	
(%)	80,70	10,53	8,77	16,29	
Total (n)	129	147	74	350	
(%)	36,86	42,00	21,14	100	

(*) teste de Qui-quadrado

Tabela 37 – Combinação de genótipos PON1-192QR e PON1-55LM nos portadores ao diagnóstico avaliados (n=32)

PON1192/55	LL	LM	MM	Total	p(*)
QQ (n)	3	4	6	13	0,297
(%)	23,08	30,77	46,15	40,63	
QR (n)	5	5	4	14	
(%)	35,71	35,71	28,57	43,75	
RR (n)	4	0	1	5	
(%)	80,00	0	20,00	15,63	
Total (n)	12	9	11	32	
(%)	37,50	28,13	34,38	100	

(*) teste exato de Fisher

Tabela 38 – Combinação de genótipos PON1-192QR e PON1-55LM nos indivíduos saudáveis avaliados (n=179)

PON1192/55	LL	LM	MM	Total	p(*)
QQ (n)	12	34	12	58	<0,001
(%)	20,69	58,62	20,69	32,40	
QR (n)	44	41	3	88	
(%)	50,00	46,59	3,41	49,16	
RR (n)	27	6	0	33	
(%)	81,82	18,18	0	18,44	
Total (n)	83	81	15	179	
(%)	46,37	45,25	8,38	100,00	

(*) teste de Qui-quadrado

4.4.3 Da atividade enzimática basal de PON1 por grupo estudado

Na tabela 39 são apresentados os valores de atividade enzimática basal geral (média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo) para cada um dos três grupos. Empregando-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, observa-se que os grupos (n=561) não diferiram quanto à atividade basal de PON1 (p=0,358).

Tabela 39 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da atividade basal de PON1 (em U/L) por grupo avaliado (n=561)

Grupo	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p(*)
PACIENTES	350	140,30	98,92	123,00	20,00	472,00	
PORT HIV	32	153,70	123,20	123,00	42,00	551,00	0,358
SAUDÁVEIS	179	124,90	81,46	107,00	10,00	412,00	

(*) teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

4.4.4 Da atividade da enzima PON1 por genótipo PON1-192 ou PON1-55 em cada grupo avaliado

4.4.4.1 Pacientes

Os valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo determinados para a atividade basal de PON1 no grupo de 350 pacientes, conforme o genótipo PON1-192 ou PON1-55, são apresentados na tabela 40.

Tabela 40 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da atividade basal de PON1(em U/L) por genótipo PON1-192 ou PON1-55 no grupo de pacientes (n=350)

Polimorfismo	Genótipo	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	P(*)
PON1-192	QQ	152	71,80	49,21	59,00	20,00	329,00	<0,001
	QR	141	161,80	73,53	143,00	46,00	472,00	
	RR	57	269,50	100,20	296,00	62,00	438,00	
	LL	129	187,30	101,40	163,00	41,00	438,00	
PON1-55	LM	147	123,30	86,43	109,00	31,00	472,00	<0,001
	MM	74	91,91	83,34	57,00	20,00	413,00	

(*) teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

Conforme o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, nota-se que os genótipos PON1-192QR promovem diferenças quanto a atividade. O genótipo QQ difere de modo significativo, apresentando valores significativamente menores, dos genótipos QR e RR (testes de Dunn; $p < 0,05$). Entre os genótipos QR e RR há diferença significativa (teste de Dunn; $p < 0,05$), com o genótipo QR apresentando valores significativamente menores que RR. Através do mesmo teste estatístico, percebe-se que os genótipos PON1-55LM diferem quanto a atividade da enzima, com o genótipo LL apresentando valores significativamente maiores que os outros dois possíveis genótipos. PON1-55LM e PON1-55MM também mostraram diferença significativa (teste de Dunn; $p < 0,05$), com o genótipo LM com valores significativamente maiores que os apresentados pelo genótipo MM.

4.4.4.2 Portadores ao diagnóstico

Dentre os 32 portadores de HIV ao diagnóstico, também empregando-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, constatou-se diferença significativa entre o genótipo PON1-192QQ – com valores significativamente menores (teste de Dunn; $p < 0,05$) – e os genótipos PON1-192QR e PON1-192RR. Os dois últimos, entretanto, não mostraram diferença significativa entre si (teste de Dunn; $p > 0,05$). Nota-se, ainda, que os possíveis genótipos de PON1-55LM não diferiram quanto a atividade basal da enzima PON1. A tabela 41 apresenta os valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo para os genótipos PON-192 ou PON1-55.

Tabela 41 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da atividade basal de PON1(em U/L) por genótipo PON1-192 ou PON1-55 no grupo de portadores ao diagnóstico (n=32)

Polimorfismo	Genótipo	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p(*)
PON1-192	QQ	13	78,50	37,30	67,00	47,00	178,00	0,002
	QR	14	158,50	71,10	142,00	42,00	319,00	
	RR	5	320,60	204,30	320,00	79,00	551,00	
	LL	12	216,60	164,50	160,00	80,00	551,00	
PON1-55	LM	9	143,60	91,60	123,00	42,00	319,00	0,050
	MM	11	99,00	63,54	72,00	47,00	255,00	

(*) teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

4.4.4.3 Indivíduos Saudáveis

Os valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo determinados para a atividade basal de PON1 nos 179 indivíduos saudáveis, conforme o genótipo PON1-192 ou PON1-55 são apresentados na tabela 42.

Tabela 42 – Valores de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo da atividade basal de PON1(em U/L) por genótipo PON1-192 ou PON1-55 no grupo de indivíduos saudáveis (n=179)

Polimorfismo	Genótipo	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p(*)
PON1-192	QQ	58	54,45	25,92	53,00	10,00	202,00	<0,001
	QR	88	139,30	52,98	131,50	28,00	290,00	
	RR	33	210,20	104,90	216,00	33,00	412,00	
PON1-55	LL	83	164,80	89,29	152,00	25,00	412,00	<0,001
	LM	81	91,74	52,47	77,00	10,00	277,00	
	MM	15	82,93	65,17	53,00	33,00	243,00	

(*) teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

Através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis verifica-se que os genótipos PON1-192 diferem quanto a atividade, onde os portadores do genótipo QQ apresentam valores significativamente menores (teste de Dunn; $p < 0,05$) quando comparados aos outros dois possíveis genótipos. Não observou-se, contudo, diferenças na atividade entre os genótipos QR e RR (teste de Dunn; $p > 0,05$). Em relação aos genótipos PON1-55LM, observa-se que o genótipo LL difere de modo significativo dos outros dois possíveis genótipos (teste de Dunn; $p < 0,05$), apresentando valores significativamente maiores. Os genótipos LM e MM não mostraram diferença significativa quando comparados entre si (teste de Dunn; $p > 0,05$).

4.4.5 Da frequência dos genótipos PON2-311 e PON2-148 nos grupos avaliados

4.4.5.1 Polimorfismo PON2-311CS

Através do teste de qui-quadrado pode-se observar que os grupos diferem quanto a distribuição dos genótipos e alelos. Os grupos de saudáveis e pacientes não diferem entre si ($p=0,507$), entretanto, apresentaram percentual de casos significativamente maior do que o grupo de portadores de HIV ao diagnóstico ($p=0,013$). As tabelas 43 e 44 ilustram estes resultados.

Tabela 43 – Frequência dos alelos PON2-311C e PON2-311S nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis ($n=561$)

Genótipo	PACIENTES	PORT HIV	SAUDÁVEIS	Total	p(*)
S (n)	241	12	116	369	
(%)	34,43	18,75	32,40		
C (n)	459	52	242	753	0,037
(%)	65,57	81,25	67,60		
Total	700	64	358	1122	

(*) teste de Qui-quadrado

Tabela 44 – Frequência dos possíveis genótipos de PON2-311CS nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561)

Genótipo	PACIENTES	PORT HIV	SAUDÁVEIS	Total	p(*)
SS (n)	186	25	74	285	0,001
(%)	53,14	78,13	41,34		
CS (n)	87	2	94	183	
(%)	24,86	6,25	52,51		
CC (n)	77	5	11	93	
(%)	22,00	15,63	6,15		
Total	350	32	179	561	

(*) teste de Qui-quadrado

4.4.5.2 Polimorfismo PON2-148AG

Ainda pelo teste de qui-quadrado, observa-se que os grupos não diferem quanto a distribuição dos genótipos. As tabelas 45 e 46 ilustram estes resultados.

Tabela 45 – Frequência dos alelos PON2-148A e PON2-148G nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561)

Genótipo	PACIENTES	PORT HIV	SAUDÁVEIS	Total	p(*)
A (n)	535	44	269	848	0,381
(%)	76,43	68,75	75,14		
G (n)	165	20	89	274	
(%)	23,57	31,25	24,86		
Total	700	64	358	1122	

(*) teste de Qui-quadrado

Tabela 46 – Frequência dos possíveis genótipos de PON2-148AG nos grupos dos 350 pacientes da Casa da AIDS, dos 32 portadores ao diagnóstico e dos 179 indivíduos saudáveis (n=561)

Genótipo	PACIENTES	PORT HIV	SAUDÁVEIS	Total	p(*)
AA (n)	209	17	97	323	0,052
(%)	59,71	53,13	54,19		
AG (n)	117	10	75	202	
(%)	33,43	31,25	41,90		
GG (n)	24	5	7	36	
(%)	6,86	15,63	3,91		
Total	350	32	179	561	

(*) teste de Qui-quadrado

4.4.6 Do TBARS, linfócitos T CD4+ e da carga viral

Empregando-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, pode-se observar que os grupos diferem em relação ao TBARS, sendo que o grupo composto pelos 25 controles apresentou valores significativamente menores (teste de Dunn, $p < 0,05$). O grupo de pacientes da Casa da AIDS e o dos portadores ao diagnóstico não apresentaram diferença significativa entre si. A tabela 47 apresenta estes dados.

Tabela 47 – Valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo do TBARS nos grupos estudados (em nmoles/ml)

Grupo	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p(*)
PACIENTES	288	2,31	1,98	2,06	0,15	28,53	
PORT HIV	25	2,20	1,02	2,04	0,93	5,24	<0,001
CONTROLES	25	1,34	0,76	1,02	0,03	3,00	

(*) teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

A possibilidade de correlação entre o TBARS e a atividade enzimática de PON1 foi avaliada no grupo de pacientes da Casa da AIDS (n=288) através do coeficiente de Spearman não ocorrendo, entretanto, correlação significativa entre estes dois parâmetros ($r=0,001$; $p=0,980$).

Foi verificada, ainda, possível correlação entre TBARS, atividade da enzima, contagem de células CD4+ e contagem de partículas virais (carga viral) empregando-se o mesmo teste estatístico. Percebe-se, aqui, a existência de correlação positiva e significativa entre o número de células CD4+ e a atividade de PON1 (n=348; $r=0,131$; $p=0,014$). Assim, quanto maior a atividade enzimática, maior a quantidade de células CD4+ e vice-versa. Ao separar-se a contagem de linfócitos T CD4+ dos pacientes em 3 grupos (até 200 células/mm³; de 200 a 499 células/mm³ e acima de 500 células/mm³) e empregando-se teste não paramétrico de Kruskal-Wallis pode-se notar que os 2 primeiros grupos diferem do grupo com mais de 500 células/mm³ quanto à atividade da PON1 (teste de Dunn, $p<0,05$), o qual apresentou maior atividade enzimática. A tabela 48 apresenta estes valores.

Tabela 48 – Valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo da atividade enzimática de PON1 por número de células CD4+

Células CD4+	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	p(*)
<200 céls/mm ³	44	128,00	87,62	109,00	21,00	341,00	
200-499 céls/mm ³	132	127,6	95,94	110,00	20,00	472,00	0,015
>=500 céls/mm ³	174	153,00	102,70	136,50	30,00	453,00	

(*) teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

Não foram observadas, entretanto, correlações significativas entre a contagem de células CD4+ e TBARS (n=286; r= -0,104; p=0,079) – inclusive ao separar-se por número de linfócitos T CD4+ e submeter-se ao teste de Kruskal-Wallis - carga viral e atividade da enzima PON1 (n=111; r=0,076; p=0,425), bem como entre carga viral e valores de TBARS (n=94; r= -0,046; p=0,659) avaliadas através do teste de Spearman.

Os resultados do TBARS determinados no grupo de 288 pacientes não apresentaram diferença dentre os genótipos avaliados (PON2-148AG – p=0,086; PON1-192QR – p=0,787; PON1-55LM – p=0,298 e PON2-311SC – p=0,845), conforme verificado através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e ilustrado na tabela 49.

Tabela 49 – Valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo do TBARS nos genótipos estudados no grupo de pacientes (em nmoles/ml) (n=288)

Genótipo		N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	P(*)
A148G	AA	175	2,32	2,34	2,01	0,15	28,53	
	AG	96	2,19	1,16	2,07	0,41	6,34	0,086
	GG	17	2,87	1,40	2,96	0,47	6,28	
Q192R	QQ	116	2,26	1,36	2,16	0,34	9,76	
	QR	129	2,37	2,61	1,99	0,15	28,53	0,787
	RR	43	2,25	0,96	2,07	0,73	5,25	
L55M	LL	103	2,25	1,02	2,15	0,28	6,28	
	LM	140	2,45	2,64	2,10	0,15	28,53	0,298
	MM	45	1,98	0,97	1,71	0,67	4,55	
C311S	CC	67	2,18	1,16	2,12	0,15	4,70	
	CS	68	2,20	1,29	2,10	0,33	6,34	0,845
	SS	153	2,41	2,46	2,02	0,28	28,53	

(*) teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

Para o grupo 25 de portadores de HIV ao diagnóstico, através do mesmo teste estatístico (Kruskal-Wallis), verificou-se que os valores do TBARS não diferiram em relação aos genótipos dos polimorfismos PON2-148AG ($p=0,500$) e PON1-192QR ($p=0,889$). No genótipo PON1-55 observou-se diferença significativa do TBARS (teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, $p=0,031$) Através do teste de Dunn, constatou-se que o genótipo PON1-55LM diferiu significativamente de PON1-55MM ($p<0,05$). Dado ao número reduzido de casos para o genótipo PON2-311SC ($n=2$) e conseqüente impossibilidade de comparação entre os 3 possíveis genótipos

de PON1-311SC, excluiu-se estes 2 indivíduos e empregando-se teste não paramétrico de Mann-Whitney, verificou-se que os genótipos PON2-311SS e PON2-311CC não influenciaram os valores do TBARS ($p=0,192$). A tabela 50 apresenta estes achados.

Tabela 50 – Valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo do TBARS nos genótipos estudados no grupo de portadores de HIV ao diagnóstico (em nmoles/ml) (n=25)

Genótipo		N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	P(*)
A148G	AA	11	2,41	1,10	2,09	1,18	5,24	<0,001
	AG	9	2,19	1,09	1,96	0,93	4,15	
	GG	5	1,75	0,51	1,63	1,07	2,33	
Q192R	QQ	10	2,24	1,23	2,04	0,93	5,24	0,889
	QR	11	2,15	0,94	1,91	1,07	4,15	
	RR	4	2,24	0,74	2,04	1,63	3,26	
L55M	LL	11	2,04	0,72	1,91	1,26	3,26	0,031
	LM	6	3,17	1,26	2,69	2,04	5,24	
	MM	8	1,69	0,65	1,65	0,93	2,90	
C311S	CC	5	2,55	1,11	2,19	1,30	4,15	--
	CS	2	4,25	1,40	4,25	3,26	5,24	
	SS	18	1,88	0,61	1,83	0,93	2,90	

(*) teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

Ao avaliar-se os valores da contagem do número de linfócitos T CD4+ dentre os genótipos estudados, no grupo de pacientes (n=348) foi observada associação entre esta contagem e os genótipos de PON2-311SC. Os portadores do genótipo CC apresentaram valores significativamente maiores

que os possuidores do genótipo PON2-311SS (teste de Dunn, $p<0,05$). Os demais genótipos de PON1 e PON2 não apresentaram esta característica. A tabela 51 apresenta este achado no grupo de pacientes.

Tabela 51 - Valores de média, desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo da contagem de linfócitos T CD4+ (em células/mm³) nos genótipos estudados dentre o grupo de pacientes (n=348)

Genótipo		N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	P(*)
A148G	AA	208	491,60	246,30	473,50	7	1609	
	AG	116	556,70	310,20	533,00	8	1580	0,056
	GG	24	654,30	399,70	555,00	51	1426	
Q192R	QQ	152	510,70	282,80	477,00	8	1426	
	QR	139	510,10	270,90	475,00	12	1609	0,068
	RR	57	596,60	312,80	582,00	7	1580	
L55M	LL	128	545,80	278,90	545,00	7	1362	
	LM	146	508,70	285,20	472,00	8	1580	0,286
	MM	74	519,00	293,00	474,00	69	1609	
C311S	CC	77	606,50	328,10	555,00	8	1536	
	CS	86	521,30	302,70	519,00	51	1580	0,021
	SS	185	491,90	248,40	473,00	7	1609	

(*) teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

5. Discussão

A família de enzimas paraoxonase, composta por PON1, PON2 e PON3, apresenta grande homologia estrutural e interespecies (Primo-Parmo *et al.*, 1996).

Enquanto à PON2 atribuem-se funções de proteção contra processos oxidativos em células e tecidos (Li *et al.*, 2003; Aviram & Rosenblat, 2004), é relatado que PON1, proteína sérica que circula associada à HDL, apresenta atividade anti-aterogênica dada sua função protetora contra a oxidação lipídica, especialmente da LDL (considerada como pró-inflamatória). Sabe-se atualmente que a oxidação lipídica vem sendo relacionada com diversas patologias, dentre elas, a aterosclerose (Pasdar *et al.*, 2006). Estudos recentes indicam ainda que PON3, a menos conhecida, apresente atividades séricas semelhantes à PON1 (Draganov *et al.*, 2000; Reddy *et al.*, 2001).

Alguns autores relacionam os polimorfismos nas enzimas PON à predisposição para doenças ateroscleróticas, como a coronariana e ao acidente vascular isquêmico (Aubo *et al.*, 2000; Voetsch *et al.*, 2002; Voetsch *et al.*, 2004), apesar de existirem estudos menos conclusivos (Cao *et al.*, 1998).

O gene PON1 apresenta dois polimorfismos comuns nos códons 192 [A/G: Gln (Q)/Arg (R)] e 55 [T/A: Leu (L)/Met (M)], os quais afetam sua atividade enzimática (Costa *et al.*, 2005; Mackness *et al.*, 2003; Mackness *et al.*, 2000). Outras duas alterações comuns são atribuídas ao gene PON2: PON2-311 [C/G: Cys C/ Ser (S)] e PON2-148 [C/G: Ala (A)/Gly (G)], estando a primeira relacionada com a doença arterial coronariana em diferentes populações (Wang & Briggs, 2004) e a última, associada com o aumento da

glicose sangüínea em pacientes com diabete mellitus não insulina dependente (Hegele *et al.*, 1997).

A hipercolesterolemia, um fator de risco importante e pré-estabelecido para a aterosclerose, pode ser observada em portadores de HIV e de AIDS, bem como o excesso na produção de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-6 e o TNF- α (Das, 2005). Mais ainda, a adaptação da HDL aos estados crônicos inflamatório e de oxidação, bem como os distúrbios metabólicos relacionados à infecção pelo HIV e aos tratamentos disponíveis vem sendo assunto com contínuo interesse. A maior sobrevida destes indivíduos acarreta-lhes, também, outras alterações fisiológicas relevantes (Elbim *et al.*, 1999; Nakamura *et al.*, 2002; Palella *et al.*, 1998).

A dislipidemia relatada nestes pacientes, inclusive com aumento da LDL fenótipo B – mais oxidável - e diminuição da HDL – carreador mais adequado para a ação de PON1, bem como os polimorfismos observados na importante família de enzimas PON, levou-nos a investigar a atividade enzimática de PON1 – mais conhecida e pesquisada até o momento – e a determinar a freqüência das alterações PON1-192QR, PON1-55LM, PON2-311SC e PON2-148AG em 561 indivíduos, total composto por pacientes portadores de HIV em acompanhamento médico, por recém diagnosticados e sem tratamento e por uma amostra de população saudável. Também buscou-se avaliar a peroxidação lipídica, e possíveis correlações com PON1, na população de pacientes, bem como no grupo recém-diagnosticado como portador do vírus, visando acessar-se globalmente a injúria oxidativa na infecção pelo HIV/AIDS. Para tal, foi realizado o teste de substâncias

reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), comparando-se os resultados obtidos com um grupo de voluntários saudáveis todos em jejum (controles). Os estudos sobre a atividade enzimática de PON1, genótipos de PON1 e PON2, bem como do perfil lipídico, foram realizados em todos os 350 pacientes infectados pelo HIV já em acompanhamento médico, nos 32 outros recém diagnosticados como soropositivos para o vírus e em 179 indivíduos saudáveis, doadores de sangue da FPS/HSP.

Apesar da acessibilidade de dados clínicos nos prontuários dos 350 pacientes avaliados, as determinações de colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, VLDL-colesterol e triglicérides não estavam disponíveis em 66, 69, 70, 72 e 65, pacientes, respectivamente. Estas mesmas determinações puderam ser realizadas nos 179 doadores de sangue (saudáveis) e nos 32 portadores de HIV ao diagnóstico.

Assim, neste estudo, foram observadas diferenças entre os 3 grupos quanto aos resultados obtidos para colesterol total, HDL, VLDL e triglicérides, onde o grupo de pacientes (em jejum de 8-12 horas) apresentou valores significativamente maiores quando comparado aos grupos de portadores ao diagnóstico (em jejum de ao menos 4 horas) e de indivíduos saudáveis (em estado pós-prandial). Os valores médios e as medianas determinadas para o colesterol total estiveram dentro do valor de referência desejável (abaixo de 200mg/dL), enquanto os valores de média e mediana determinados para os triglicérides estiveram dentro dos limites desejáveis (inferior a 150 mg/dL) nos grupos de portadores de HIV e saudáveis e limítrofes (entre 150 a 200 mg/dL) dentre os pacientes. A fração VLDL-

colesterol, manteve-se dentro do valor de referência estipulado (inferior a 40 mg/dL). Os valores determinados para a HDL dentre os 3 grupos mantiveram-se dentro dos valores de referência indicativos de risco moderado (de 35 a 55 mg/dL) e não observou-se diferença entre os valores de LDL determinados nos 3 grupos. Os valores de média e mediana, mostraram o grupo de portadores de HIV ao diagnóstico como possuidor de valores mais baixos para o colesterol total, LDL e triglicérides, o que poderia ser atribuído ao maior tempo do processo infeccioso e medicações no grupo de pacientes, bem como à recente ingestão de alimentos – ainda que leve – nos indivíduos saudáveis. Quando da execução das análises bioquímicas, os pacientes encontravam-se em jejum de 12 horas, os indivíduos recém diagnosticados em jejum de, no mínimo, 4 horas e o grupo de doadores não, uma vez que o estado pós-prandial constitui condição para viabilizar a doação de sangue. Em relação a HDL, o grupo saudável apresentou valores mais baixos que os grupos de infectados pelo vírus, o que também poderia ser atribuído ao estado pós-prandial.

Conforme postulado por Naito (1989), o período de jejum, apesar de preferível, não seria crucial para a determinação do colesterol. O painel de tratamento adulto do *National Cholesterol Education Program* (NCEP – USA) (Warnick & Wood, 1995) refere que a HDL-colesterol pode ser determinada no estado pós-prandial, apesar da possibilidade de ser subestimada em, geralmente, cerca de 5-10% nesta situação (diferença esta que deve ser considerada quando da interpretação dos resultados) (Warnick & Wood, 1995). O erro introduzido, entretanto, seria conservativo e poderia conduzir à

superestimação do risco (falso positivo) nos indivíduos em estado pós-prandial e naqueles limítrofes (correspondendo aqui aos grupos de saudáveis e portadores de HIV), mas não interferiria naqueles pacientes com níveis de HDL-colesterol verdadeiramente baixos, salvo em casos onde a concentração plasmática de triglicérides estivesse elevada ao ponto de interferir por si só no teste laboratorial. Ainda conforme o mesmo estudo (Warnick & Wood, 1995) apenas cerca de 15% da população sofreria interferência nos resultados da determinação de HDL-colesterol no estado pós-prandial.

Também a terapia antiretroviral, cujo principal objetivo é, através da inibição da replicação viral, retardar a progressão da imunodeficiência e restaurar, tanto quanto possível, a imunidade, aumentando o tempo e a qualidade de vida da pessoa que vive com HIV ou AIDS, pode promover dislipidemia (www.aids.gov.br). Esta, caracterizada por níveis elevados de colesterol total e de lipoproteínas outras que a HDL-colesterol, diminuição do tamanho da LDL-colesterol e aumento de triglicérides é um achado comum em pacientes tratados com terapia antiretroviral (TARV) a longo prazo, especialmente nos expostos aos inibidores de protease (cerca de 60%) (Mallon, 2006, Saint Martin *et al.*, 2006). Acredita-se que a patogênese da dislipidemia associada ao uso de TARV possa estar relacionada com efeitos induzidos pelas drogas em níveis molecular e celular (Mallon, 2006).

Estima-se que desde a infecção inicial até o estabelecimento da AIDS sejam necessários de 10 a 12 anos; tendo-se como indicador da progressão do estado de portador do vírus para a síndrome, a queda do número de

células CD4+. Vale lembrar, entretanto, nem todos os pacientes portadores do vírus HIV desenvolvem AIDS (Das, 2005). Diferentes tipos e classes de TARV ou combinações de terapias estão disponíveis, devendo-se considerar a tolerabilidade, custo e objetivos terapêuticos. O início e a escolha da terapia depende do diagnóstico e de parâmetros sorológicos, geralmente sendo introduzida quando a contagem de células CD4+ for menor que 200 linfócitos/mm³ (Ngondi *et al.*, 2006). A classificação CDC (www.cdc.gov) divide, assim, os portadores do vírus HIV em três grupos, conforme a quantidade de células CD4+: abaixo de 200 células/μL, entre 200 e 499 células/μL e acima de 500 células/μL.

No grupo de 350 pacientes avaliado, não puderam ser obtidas as contagens de células CD4+, CD8+ e da carga viral de 2 deles. Baseando-se na contagem de células CD4+ (www.cdc.gov), à época da coleta do material biológico, os pacientes estariam divididos em: 42 pacientes com menos de 200 células/μL, 132 entre 200 e 499 células/μL e 174 com mais de 500 células/μL. Segundo a versão preliminar do consenso do ano de 2006 do Ministério da Saúde (Programa Nacional de DST e AIDS) sobre as Recomendações para terapia antiretroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV (www.aids.gov.br), é recomendado o início do tratamento com antiretrovirais apenas aos indivíduos com contagem de células CD4+ abaixo de 500 células/uL. Dentre os 303 pacientes recebendo TARV, a classe de antiretrovirais mais empregada foram os ITRN (n=629), seguidos pelos IP (n=245) e por fim, dos ITRNN (n=161). A medicação mais utilizada foi a lamivudina (n=268), seguida por zidovudina (n=205), efavirenz

(n=132), dentre outras listadas no anexo B. Contudo, não foi possível, visto ao variado número de combinações de TARV apresentado pelos pacientes aqui incluídos, relacionar os medicamentos empregados e informações outras (como por exemplo, duração e aderência ao tratamento com antiretrovirais) ao perfil lipídico e contagens de células CD4+, CD8+ e carga viral destes indivíduos. Mais ainda, fatores como não retirada de medicamentos junto à farmácia da Casa da AIDS, falta de adesão ou abandono do tratamento, entre outros, não foram avaliados caso a caso nos pacientes onde não constavam registros de retirada de medicações.

A contagem das células CD4+ dos pacientes mostrou-se fator independente, não apresentando correlação estatística com achados de TBARS ou com a presença dos genótipos de PON1-192, PON1-55 e PON2-148. Foi observada, entretanto, correlação entre o número de linfócitos T CD4+ e o genótipo PON2-311SS, não sendo improvável haver uma relação entre a ação dos linfócitos T CD4+, a atividade intracelular de PON2 e a presença do vírus. Também verificou-se, neste estudo, diferença significativa ao avaliar-se o número de células CD4+ e a atividade de PON1: o grupo de pacientes cuja contagem de linfócitos T CD4+ era maior que 500 células/mm³ apresentou maior atividade enzimática quando comparado aos grupos de pacientes com 200 a 499 células/mm³ e com menos de 200 células/mm³. Este achado é condizente ao relatado por Parra *et al.* (2006) que também observaram associação entre a atividade da PON1 e a contagem de células CD4+ e que postulam que a infecção pelo HIV e a condição imunológica do paciente influenciam a atividade e a concentração

da enzima. Desta forma, a atividade enzimática de PON1 seria mais eficiente em condições imunológicas favoráveis, como observado dentre os possuidores de linfócitos T CD4+ acima de 500 células/mm³.

A reação colorimétrica do ácido tiobarbitúrico (TBA) com uma substância desconhecida, formada durante a incubação aeróbica de homogenatos de tecidos, foi inicialmente descrita por Kohn e Liversedge em 1944. Esta substância foi posteriormente identificada por Patton e Kurtz, em 1951, como sendo predominantemente malonaldeído, um produto secundário da peroxidação lipídica (Ohkawa *et al.*, 1979). Desde então, a reação do TBA com aldeídos da lipoperoxidação, como o malonaldeído, vem sendo amplamente utilizada como indicador de peroxidação lipídica em amostras biológicas, incluindo-se aqui o plasma, visto que o aduto formado durante a reação pode ser medido tanto por absorbância como por fluorescência (Nielsen *et al.*, 1997).

A reação de TBARS foi realizada, assim, em 288 indivíduos matriculados e seguidos pela Casa da AIDS do HCFMUSP e em 25 portadores de HIV diagnosticados quando da doação de sangue na FPS/HSP (totalizando 313 portadores do vírus), comparando-se estes resultados com os obtidos para um grupo controle composto por 25 voluntários saudáveis.

Neste estudo, não houve diferença estatística para os valores de TBARS quanto aos genótipos estudados nos grupos de pacientes e de portadores ao diagnóstico, quanto à atividade enzimática, assim como em relação a carga viral (neste caso avaliada somente no grupo de pacientes).

Também o número de células CD4+ não apresentou relação com o TBARS. Entretanto, observou-se que os dois grupos de infectados pelo HIV, apesar de não diferirem de modo significativo entre si, apresentaram valores de TBARS significativamente maiores que os encontrados no grupo de 25 indivíduos utilizado como controle ($p < 0,05$), indicando maior peroxidação lipídica, em especial de ácidos graxos, nos infectados pelo vírus.

Sönnernborg *et al.* (1988), no final da década de 80, relataram que os valores médios encontrados para a determinação de malonaldeído nos pacientes em diferentes estágios da infecção pelo HIV eram cerca de 30% mais altos do que os controles. Este fenômeno não era correlacionado ao grau de imunodeficiência e não era observado no início da doença, indicando alto grau de peroxidação lipídica basal, o qual possivelmente contribui para o dano tecidual nestes indivíduos (Sönnernborg *et al.*, 1988). Tzavara *et al.* (1997), observaram valores significativamente aumentados de TBARS nos pacientes infectados pelo vírus mas sem AIDS, comparados aos indivíduos saudáveis e aos pacientes com AIDS já manifestada.

Por sua vez, Ngondi *et al.* (2006) ao avaliarem os efeitos de diferentes combinações de terapias sobre marcadores de estresse oxidativo em portadores de HIV relataram aumento significativo das concentrações de TBARS em pacientes sob TARV, comparados àqueles sem terapia e à indivíduos não infectados. Não encontraram diferenças significativas nos marcadores de estresse oxidativo avaliados entre os pacientes com e sem contagem de células CD4+ menor que 200 linfócitos/mm³, e nem observaram relação entre sexo, idade, contagem de células CD4+ e carga

viral sobre o TBARS. Concluíram, assim, que há aumento do estresse oxidativo causado pela infecção, o qual é potencializado pela TARV através do aumento da oxidação lipídica. Este achado é compatível com outros relatos sobre o aumento do estresse oxidativo causado pela TARV em níveis acima ou semelhantes aos também promovidos pelo vírus *per se*. Estudos em indivíduos assintomáticos infectados pelo HIV e naqueles com AIDS já instalada encontraram aumento do estresse oxidativo, indicado pelo aumento de metabólitos plasmáticos da peroxidação lipídica e/ou diminuição da quantidade de antioxidantes, comparados a controles saudáveis (Ngondi *et al.*, 2006; Papadopolus-Eleopolus *et al.*, 1991; Allard *et al.*, 1998; Eck *et al.*, 1989; Gil *et al.*, 2003; Jaworowski & Crowe, 1999; Muller *et al.*, 1996).

A ausência de correlação estatística entre os valores de TBARS e a atividade basal da enzima PON1, bem como a análise da atividade enzimática basal e número de linfócitos CD4+, sugerem que o efeito observado sobre PON1 dá-se não pelo aumento da oxidação lipídica mas pela diminuição da imunidade destes pacientes. O ensaio de TBARS, aqui eleito visando-se um teste global, demonstrou através da determinação específica do malonaldeído - que avalia um dos produtos finais formados durante o estresse oxidativo - o aumento da peroxidação lipídica nos portadores de HIV.

Defeitos genéticos podem ser detectados laboratorialmente tanto pelos achados fenotípicos – determinação da atividade, de níveis, análise de anormalidades na proteína ou na via envolvida – quanto pelo estudo do genótipo, através da avaliação direta do DNA do paciente (Crookston *et al.*,

1998). A genotipagem consiste, assim, em um método rápido, sensível e confiável para a grande maioria das situações em que se necessite avaliar a presença ou ausência de uma alteração genética. Também a determinação da atividade de PON1 empregando-se o paraoxon é relatada como a forma mais comumente empregada para avaliar-se a ação da enzima no soro (Mackness *et al.*, 2001). Particularmente para PON1, além do efeito sobre a taxa de hidrólise de diferentes substratos - dentre eles o paraoxon – promovido pela troca de aminoácido observada no polimorfismo PON1-192QR, é relatada uma grande e estável variabilidade interindivíduos na quantidade de PON1 sérica (Richter & Furlong, 1999), atribuída a fatores genéticos e adquiridos. Postula-se, assim, a necessidade da determinação tanto do genótipo como da atividade enzimática de cada indivíduo, caracterizando o chamado *status* da PON1 (Brophy *et al.*, 2000).

Desta forma, a extração de DNA genômico e a posterior genotipagem foram satisfatoriamente realizadas para os grupos de pacientes da Casa da AIDS, portadores de HIV ao diagnóstico e de indivíduos saudáveis (doadores de sangue), assim como a determinação da atividade basal da enzima PON1.

No total de 350 pacientes, foram identificados 152 (43,43%) indivíduos com genótipo 192QQ, outros 141 (40,29%) com genótipo 192QR e 57 (16,29%) pacientes identificados como possuidores de genótipo 192RR.

Dentre os 32 portadores de HIV ao diagnóstico avaliados, 13 (40,63%) deles apresentaram o genótipo PON1-192QQ, 14 (43,75%) o

genótipo PON1-192QR, tendo sido o genótipo PON1-192RR, por sua vez, identificado em outros 5 (15,63%).

No grupo composto pelo 179 indivíduos saudáveis, em 58 (32,40%) deles foi detectado o genótipo PON1-192QQ, em 88 deles (49,16%) o genótipo PON1-192QR e em outros 33 (18,44%), o genótipo PON1-192RR.

Desta forma, as frequências para os alelos PON1-192R e PON1-192Q, no grupo de pacientes foram 36,43% e 63,57%, respectivamente; nos portadores de HIV ao diagnóstico estas mesmas frequências foram 37,50% e 62,50%; e nos indivíduos saudáveis, a frequência para o alelo PON1-192Q foi 43,02% e para o alelo PON1-192R, 56,98%. Os três grupos estudados não apresentaram diferenças em relação aos possíveis genótipos de PON1-192QR, não havendo, assim, associação entre genótipo e tipo de indivíduo avaliado.

Estas distribuições alélicas assemelharam-se às observadas em populações da Itália Central (Scacchi *et al.*, 2003; Leus *et al.*, 2001), Turquia (Ayanacioglu *et al.*, 1999) e em etíopes (Scacchi *et al.*, 2003), bem como com estudos em brasileiros (Allebrandt *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2004), mas não em indivíduos chineses (Zhang *et al.*, 2006), do Equador (Cayapa) e de Benin (Bariba e Berba) (Scacchi *et al.*, 2003). As frequências encontradas nestes e outros estudos estão disponibilizadas no anexo L.

Em relação à alteração PON1-55LM no grupo de pacientes observou-se a seguinte distribuição: 129 (36,86%) indivíduos com genótipo PON1-55LL, 147 (42,00%) com genótipo PON1-55LM e 74 (21,14%) com o genótipo PON1-55MM. No grupo de portadores de HIV ao diagnóstico, 12

(37,50%) deles possuíam genótipo PON1-55LL, 9 (28,13%) apresentaram o genótipo PON1-55LM e 11 (34,38%), o genótipo PON1-55MM. Dentre os indivíduos saudáveis, 83 (46,37%) foram identificados como portadores do genótipo PON1-55LL, 81 (45,25%) como heterozigotos (PON1-55LM) e outros 15 (8,38%), com genótipo PON1-55MM.

Assim, as frequências alélicas aqui determinadas para os alelos PON1-55L e PON1-55M foram de 57,86% e 42,14%, respectivamente, no grupo de pacientes; de 51,56% para o alelo PON1-55L e 48,44% para o alelo M dentre os portadores de HIV ao diagnóstico e, por fim, de 68,99% e 31,01%, respectivamente, nos indivíduos saudáveis avaliados. Foi observada aqui, diferença na distribuição dos genótipos de PON1-55LM entre os grupos avaliados, sendo que o grupo de saudáveis diferiu dos 2 grupos de infectados pelo vírus.

Entretanto, as distribuições alélicas para este polimorfismo assemelharam-se àquelas observadas em populações da Holanda (Leus *et al.*, 2001), Turquia (Ayanacioglu *et al.*, 1999), Chile (Acuna *et al.*, 2004) e Brasil (Oliveira *et al.*, 2004), diferindo de estudos realizados em tailandeses, chineses (Zhang *et al.*, 2006; Phuntuwate *et al.*, 2005). Estas informações são apresentadas no anexo M.

Os resultados da determinação da atividade de PON1 sérica geral no grupo de pacientes da Casa da AIDS variaram de 20,00 a 472,00 U/L (média $\pm$ desvio padrão $140,30 \pm 98,92$ e mediana de 123,00 U/L); nos portadores de HIV ao diagnóstico a variação observada foi de 42,00 a 551,00 U/L (média $\pm$ desvio padrão $153,70 \pm 123,20$ e mediana de 123,00 U/L) e nos

indivíduos saudáveis, de 10,00 a 412,00 U/L (média $\pm$ desvio padrão: 124,90 $\pm$ 81,46 e mediana de 107,00 U/L). A relação observada entre os genótipos de PON1-192 e/ou PON1-55 com a atividade enzimática de PON1, nos três grupos avaliados, foi concordante com os achados de Charlton-Menys *et al.* (2006), observando-se nos portadores dos genótipos PON1-192RR e/ou PON1-55LL uma maior atividade da enzima.

Assim como realizado para o perfil lipídico, a atividade enzimática de PON1 foi avaliada nos pacientes - e aqui também nos portadores de HIV ao diagnóstico - em situação de jejum e nos indivíduos saudáveis, doadores de sangue, no estado pós-prandial. Conforme relatado por Fuhrman *et al.* (2005), nestas duas situações não é observada alteração na atividade da enzima, mas tão somente em sua distribuição dentre as lipoproteínas séricas. A HDL permanece sendo o maior carreador da PON1 sérica (97%) também na situação pós-prandial e não ocorrem alterações significativas em relação ao jejum. O estado pós-prandial, caracterizado pelo acúmulo de lipoproteínas ricas em triglicerídeos - principalmente em quilomicrons e na VLDL - continua, assim, a apresentar atividade paraoxonase. Observa-se na fração VLDL, um aumento de cerca de 2 vezes da atividade desta enzima ao comparar-se o estado pós-prandial ao de jejum. Neste mesmo estudo, o grupo observou presença de PON1 funcional inclusive em quilomicrons pós-prandiais, provindos provavelmente da HDL sérica (Fuhrman *et al.*, 2005).

Parra *et al.* (2006) observaram, em pacientes infectados pelo HIV, alterações na atividade e concentração de PON1. Em seu estudo, a atividade da enzima mostrou-se diminuída e a concentração, aumentada,

achados estes que talvez pudessem ser explicados, segundo os autores, por uma maior ligação de radicais livres à PON1 (com conseqüente diminuição de sua atividade na circulação), pelas menores concentrações de HDL e apo-A1 (dificultando o ancoramento da PON 1 à lipoproteína) observadas no grupo de pacientes, por algum possível tratamento com antibióticos Gram - (derivados de cefalosporina e aminoglicosídeo) (Sinan *et al.*, 2006), bem como por alterações hepáticas que influenciariam a concentração da PON1 sérica. Trata-se, entretanto, do único estudo da PON1 neste modelo de doença e mais dados contribuiriam para corroborar com estes achados.

As distribuições para os genótipos do polimorfismo na posição 311 do gene da PON2, no grupo de pacientes da Casa da AIDS foram: 186 (53,14%) pacientes com genótipo PON2-311SS, 87 (24,86%) com genótipo PON2-311 SC e 77 (22,00%) com o genótipo PON2-311CC. No grupo de 32 portadores ao diagnóstico, observaram-se 25 (78,13%) indivíduos com genótipo PON2-311SS, 2 (6,25%) com genótipo PON2-311SC e outros 5 (15,63) com genótipo PON2-311CC. Para a população saudável, as freqüências observadas foram 74 (41,34%) doadores com genótipo PON2-311SS, 94 (52,51%) com genótipo PON2-311 SC e outros 11 (6,15%) com o genótipo PON2-311CC.

As freqüências alélicas aqui apresentadas para PON2-311S e PON2-311C foram 65,57% e 34,43%, respectivamente, no grupo de pacientes. Dentre o grupo de portadores ao diagnóstico, o alelo PON2-311S apresentou freqüência de 81,25% enquanto para o alelo PON2-311C esta

freqüência foi de 18,75%. Na população saudável avaliada estas freqüências foram 67,60% e 32,40%, respectivamente.

A distribuição destes alelos concorda com as pesquisadas em populações da Holanda (Leus *et al.*, 2001), Brasil (Oliveira *et al.*, 2004), China (Zhang *et al.*, 2006) e em chilenos (Acuna *et al.*, 2004).

Por fim, a distribuição de genótipos para PON2-148 nos pacientes foi: 209 (59,71%) com genótipo PON2-148AA, 117 (33,43%) com genótipo PON2-148 AG e 24 (6,86%) com genótipo PON2-148GG. No grupo de portadores ao diagnóstico, esta distribuição de genótipos foi de 17 (53,13%), 10 (31,25%) e 5 (15,63%), respectivamente. Na população saudável avaliada, estas freqüências foram: 97 (54,19%) indivíduos com genótipo PON2-148AA, 75 (41,90%) com genótipo PON2-148AG e 7 (3,91%) com genótipo PON2-148GG.

A distribuição dos alelos PON2-148A e PON2-148G, portanto, foi de 76,43% para o alelo PON2-148A e 23,57% para o alelo PON2-148G nos pacientes; 68,75% e 31,25% nos portadores ao diagnóstico e, por fim, de 75,14% para o alelo PON2-148A e 24,86% para o alelo PON2-148G nos indivíduos saudáveis. Esta freqüência de alelos (PON2-148A e PON2-148G) assemelhou-se às encontradas em brasileiros (Oliveira *et al.*, 2004), chilenos (Acuna *et al.*, 2004) e chineses (Zhang *et al.*, 2006).

Os dados obtidos neste estudo demonstraram freqüências alélicas concordantes com a literatura pertinente. A atividade de PON1 conforme os genótipos dos polimorfismos PON1-192QR e PON1-55LM, e suas

associações, também obedeceu ao descrito (RR>QR>QQ e LL>LM>MM), com os portadores do genótipo PON1-192RR (isoforma R) apresentando melhor atividade enzimática do que os portadores do genótipo heterozigoto e por fim, do que os possuidores do genótipo PON1-192QQ (isoforma Q); e com os indivíduos portadores do genótipo PON1-55LL demonstrando maior atividade que heterozigotos, seguidos do genótipo PON1-55MM.

Foram, entretanto, observadas diferenças na atividade basal da enzima PON1 nos portadores de HIV, comparados à uma amostra de população saudável, e correlação significativa entre atividade enzimática e número de linfócitos T CD4+ por eles apresentados. Observou-se, ainda, aumento da peroxidação de ácidos graxos nos infectados pelo vírus, a qual não dependeu de fatores como genótipo, atividade enzimática, contagem de células CD4+ ou carga viral.

Sabe-se, contudo, que a sobrevida dos portadores de HIV é acompanhada por um processo infeccioso crônico e por tratamentos contínuos, com efeitos colaterais, expondo estes pacientes à situações complexas, multifatoriais e interrelacionadas como inflamação, aterosclerose e dislipidemia. Mais ainda, são observadas nestes indivíduos alterações importantes no metabolismo do colesterol e em suas frações, bem como nos triglicérides. Como exemplo, alterações genéticas, como polimorfismos na apo-C, também são associados ao aumento de triglicérides em portadores e não portadores do vírus (Li *et al.*, 1995; Dammerman *et al.*, 1993; Fauvel *et al.*, 2001; Lai *et al.*, 2005; Tarr *et al.*, 2005) e sabe-se, hoje, que os lípidos (especialmente o colesterol) são matéria-prima essencial ao vírus para

garantir etapas importantes de seu ciclo, como seu estabelecimento e replicação (Alonso-Villaverde *et al.*, 2003). São escassas as informações sobre a atividade, concentração e genótipos de PON1 em portadores do vírus e inexistem estudos abrangendo PON2 – cuja ação proposta é controlar o estresse oxidativo intracelular - ou PON3 em infectados pelo HIV. Obstante, não se pode afastar a hipótese de que a presença de um ou mais destes polimorfismos – além da atividade diminuída de PON1 – associada(s) à algum(ns) dos fatores supracitados, possa acarretar, ainda que indiretamente, em uma contribuição adicional ao desenrolar desta infecção.

6. Conclusões

- As distribuições alélicas dos polimorfismos PON1-192QR, PON1-55LM, PON2-311SC e PON2-148AG na amostra de infectados pelo vírus HIV avaliada foram: no grupo de pacientes, 36,43% para o alelo PON1-192R; 57,86% para o alelo PON1-55L; 65,57% para o alelo PON2-311S e 76,43% para o alelo PON2-148A; no grupo de portadores ao diagnóstico, 37,50% para o alelo PON1-192R; 51,56% para o alelo PON1-55L; 81,25% para o alelo PON2-311S e 68,75% para o alelo PON2-148A. Esta distribuição de alelos não foi diferente da encontrada na população controle.
- A relação entre genótipos PON1-192QR e/ou PON1-55LM e atividade enzimática basal de PON1 não apresentou diferença entre os indivíduos saudáveis e aqueles infectados pelo vírus. Entretanto, verificou-se aumento da atividade enzimática nos portadores de HIV cuja contagem de linfócitos T CD4+ encontrava-se acima de 500 células/mm³, não apresentando relação com o número de partículas virais (carga viral).
- Há aumento da peroxidação lipídica no plasma destes pacientes, a qual independe do genótipo de PON1, de sua atividade enzimática, da contagem de células CD4+ ou da carga viral.
- Estas observações contribuem para o estudo das alterações do metabolismo lipídico descritas na infecção pelo vírus da AIDS e seu tratamento.

7. Anexos

Anexo A – Dados gerais sobre os pacientes (sexo, idade e raça), resultados das determinações de colesterol total, frações de colesterol, triglicérides, contagens de CD4+, CD8+ e da carga viral (n=350)

Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-001	43	M	Branca	132	57	53	22	111	676	999	Ind
PACIENTE-002	37	M	Branca	--	--	--	--	--	500	1102	10.600
PACIENTE-003	56	M	Mestiço	--	--	--	--	--	166	573	43.700
PACIENTE-004	29	M	Branca	159	--	--	--	166	837	1295	Ind
PACIENTE-005	36	F	Branca	190	47	126	--	83	695	585	Ind
PACIENTE-006	44	M	Branca	--	--	--	--	--	212	975	Ind
PACIENTE-007	52	M	Branca	171	30	84	57	284	623	736	Ind
PACIENTE-008	46	M	Branca	155	70	64	21	103	473	1162	770
PACIENTE-009	49	M	Branca	180	36	110	34	168	412	968	795
PACIENTE-010	49	F	Branca	200	101	80	19	97	407	762	Ind
PACIENTE-011	44	M	Branca	164	28	84	52	259	1132	1128	Ind
PACIENTE-012	42	F	Branca	234	75	141	18	92	555	790	Ind
PACIENTE-013	49	M	Branca	--	--	--	--	--	958	3654	6.140
PACIENTE-014	38	F	Branca	219	50	116	53	263	471	1295	398.000
PACIENTE-015	44	M	Branca	--	--	--	--	--	319	1096	144.000
PACIENTE-016	32	M	Branca	--	--	--	--	--	461	1383	3.020
PACIENTE-017	33	M	Mestiço	--	--	--	--		504	610	Ind
PACIENTE-018	37	M	Mestiço	218	45	124	--	246	627	1463	Ind
PACIENTE-019	49	M	Branca	212	66	133	13	64	792	870	Ind
PACIENTE-020	42	M	Branca	272	43	171	58	288	678	936	Ind
PACIENTE-021	40	F	Mestiço	177	57	106	14	72	483	556	Ind
PACIENTE-022	34	M	Branca	186	46	91	49	247	527	1034	18.600
PACIENTE-023	35	M	Branca	145	35	100	10	52	1122	1561	Ind
PACIENTE-024	42	M	Mestiço	138	43	69	26	130	161	480	Ind
PACIENTE-025	33	M	Branca	196	40	122	34	169	229	384	Ind

Continua

Continuação											
Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-026	41	M	Mestiço	266	61	185	20	397	554	1060	Ind
PACIENTE-027	38	M	Branca	269	44	159	66	611	691	1327	Ind
PACIENTE-028	24	M	Mestiço	176	71	92	13	66	336	649	Ind
PACIENTE-029	57	M	Branca	--	--	--	--	--	923	1762	Ind
PACIENTE-030	38	M	Mestiço	127	38	66	23	113	117	602	18.000
PACIENTE-031	51	M	Mestiço	--	--	--	--	--	623	2373	Ind
PACIENTE-032	38	M	Branca	147	--	--	--	184	445	579	Ind
PACIENTE-033	40	M	Branca	--	--	--	--		1262	1034	Ind
PACIENTE-034	44	F	Mestiço	229	102	105	22	110	848	1960	Ind
PACIENTE-035	57	M	Mestiço	147	36	76	35	302	330	1004	Ind
PACIENTE-036	48	M	Branca	--	--	--	--	--	503	828	90.100
PACIENTE-037	39	F	Branca	--	--	--	--	--	556	925	779
PACIENTE-038	40	M	Mestiço	--	--	--	--	--	705	1460	Ind
PACIENTE-039	34	M	Mestiço	197	53	97	47	233	738	1057	Ind
PACIENTE-040	47	F	Mestiço	217	86	111	20	98	239	668	Ind
PACIENTE-041	42	M	Branca	211	48	137	26	128	568	1259	25.200
PACIENTE-042	39	M	Branca	122	33	64	25	127	110	866	842
PACIENTE-043	37	M	Branca	--	--	--	--	--	531	940	Ind
PACIENTE-044	42	M	Branca	173	40	96	37	356	466	962	Ind
PACIENTE-045	52	F	Mestiça	214	48	139	27	136	1114	1253	Ind
PACIENTE-046	40	M	Branca	211	50	97	64	322	551	1838	Ind
PACIENTE-047	40	M	Negra	183	62	102	19	94	364	422	2.190
PACIENTE-048	31	M	Branca	167	42	103	22	109	283	498	149.000
PACIENTE-049	26	F	Branca	93	32	34	27	133	135	898	7.600
PACIENTE-050	52	M	Mestiço	227	76	127	24	118	308	1426	29.800
PACIENTE-051	38	F	Branca	249	60	140	49	246	704	576	Ind
PACIENTE-052	51	F	Negra	174	61	94	19	97	601	2462	Ind

Continua

Continuação											
Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-053	50	M	Branca	--	--	--	--	--	278	425	Ind
PACIENTE-054	36	F	Branca	163	69	81	13	67	531	520	Ind
PACIENTE-055	46	M	Branca	186	44	108	34	168	598	817	Ind
PACIENTE-056	45	M	Branca	152	41	85	26	129	339	830	Ind
PACIENTE-057	47	M	Negra	238	62	150	26	327	380	652	Ind
PACIENTE-058	46	M	Branca	118	37	67	14	69	281	397	Ind
PACIENTE-059	41	M	Mestiço	228	39	149	40	201	349	4116	Ind
PACIENTE-060	41	M	Branca	186	39	106	41	351	1362	1063	Ind
PACIENTE-061	45	M	Mestiço	167	38	69	60	299	529	625	Ind
PACIENTE-062	29	M	Branca	142	51	71	20	102	1112	1028	Ind
PACIENTE-063	34	M	Branca	192	52	78	62	309	131	1433	30.800
PACIENTE-064	52	F	Branca	197	44	110	43	215	551	1333	Ind
PACIENTE-065	52	M	Branca	210	41	144	25	124	1426	660	Ind
PACIENTE-066	28	M	Branca	183	51	105	27	135	482	396	Ind
PACIENTE-067	38	M	Branca	162	32	81	49	246	477	1042	296.000
PACIENTE-068	40	M	Branca	212	62	118	32	161	528	1045	Ind
PACIENTE-069	31	F	Mestiço	142	44	86	12	60	442	1306	Ind
PACIENTE-070	43	M	Branca	224	53	146	25	126	641	1356	Ind
PACIENTE-071	57	M	Branca	171	58	100	13	66	455	900	Ind
PACIENTE-072	41	M	Branca	147	48	75	24	121	658	1545	Ind
PACIENTE-073	44	M	Branca	--	--	--	--	--	596	948	Ind
PACIENTE-074	41	M	Branca	193	67	106	20	102	1074	902	Ind
PACIENTE-075	40	M	Branca	160	50	84	26	132	540	954	1.650
PACIENTE-076	65	M	Branca	216	39	--	--	322	345	471	5.380
PACIENTE-077	39	M	Mestiço	228	82	115	31	156	269	1441	31.900
PACIENTE-078	41	M	Branca	--	--	--	--	--	199	927	3.270
PACIENTE-079	39	M	Branca	160	38	103	19	95	534	2525	Ind

Continua

Continuação											
Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-080	52	F	Mestiço	218	45	134	39	196	678	819	Ind
PACIENTE-081	69	M	Mestiço	182	36	115	31	153	193	847	Ind
PACIENTE-082	39	M	Mestiço	211	39	128	44	221	408	1429	31.600
PACIENTE-083	55	M	Negra	126	36	76	14	72	1059	1989	1.560
PACIENTE-084	31	M	Branca	179	33	109	37	310	582	1618	Ind
PACIENTE-085	52	M	Mestiço	230	76	131	23	114	69	761	Ind
PACIENTE-086	45	M	Branca	211	55	109	47	237	453	881	685
PACIENTE-087	46	F	Branca	217	43	135	39	195	1090	2427	Ind
PACIENTE-088	59	F	Branca	225	59	137	29	147	270	860	Ind
PACIENTE-089	37	M	Branca	197	52	115	30	148	424	510	Ind
PACIENTE-090	56	M	Branca	96	50	32	14	72	180	439	Ind
PACIENTE-091	50	F	Negra	--	--	--	--	--	879	926	Ind
PACIENTE-092	49	M	Mestiço	221	45	136	40	200	768	1590	Ind
PACIENTE-093	33	M	Branca	214	32	130	52	262	1256	498	Ind
PACIENTE-094	26	M	Branca	142	41	66	35	174	355	1268	Ind
PACIENTE-095	26	M	Mestiço	199	64	110	25	127	456	886	24.900
PACIENTE-096	36	F	Branca	210	76	117	17	85	336	368	Ind
PACIENTE-097	34	M	Mestiço	178	52	111	15	77	361	612	203.000
PACIENTE-098	51	F	Branca	185	45	121	19	334	587	1377	Ind
PACIENTE-099	40	M	Branca	139	38	59	42	212	125	432	Ind
PACIENTE-100	51	F	Branca	294	72	187	35	175	476	593	1.330
PACIENTE-101	52	F	Branca	217	51	127	39	195	417	462	Ind
PACIENTE-102	61	F	Branca	182	51	98	33	164	690	839	Ind
PACIENTE-103	34	M	Mestiço	--	--	--	--	--	664	935	Ind
PACIENTE-104	39	F	Branca	304	62	198	44	220	1536	1431	Ind
PACIENTE-105	30	F	Branca	126	61	49	16	80	347	853	115.000

Continua

Continuação											
Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-106	48	M	Branca	160	39	67	54	270	752	1336	498.000
PACIENTE-107	40	F	Negra	244	64	165	15	73	790	656	Ind
PACIENTE-108	33	F	Branca	--	--	--	--	--	1021	1055	Ind
PACIENTE-109	32	M	Branca	167	44	88	35	319	148	1122	66.200
PACIENTE-110	54	F	Branca	149	59	70	20	98	545	1036	Ind
PACIENTE-111	51	M	Mestiço	192	33	92	67	498	177	528	Ind
PACIENTE-112	36	F	Branca	199	34	141	24	118	376	1407	62.600
PACIENTE-113	46	M	Branca	193	53	122	18	89	1017	1192	Ind
PACIENTE-114	46	F	Branca	130	68	50	12	61	351	924	58
PACIENTE-115	53	M	Branca	140	25	75	40	316	355	752	Ind
PACIENTE-116	42	M	Branca	221	52	118	51	257	393	887	Ind
PACIENTE-117	32	M	Branca	--	--	--	--	--	221	1004	Ind
PACIENTE-118	36	M	Branca	159	47	70	42	211	124	438	Ind
PACIENTE-119	33	M	Mestiço	199	96	78	25	126	443	1497	Ind
PACIENTE-120	35	F	Mestiço	153	40	92	21	107	109	597	80.900
PACIENTE-121	39	M	Branca	304	43	226	35	360	541	806	753
PACIENTE-122	21	M	Branca	--	--	--	--	--	410	1004	13.700
PACIENTE-123	41	M	Branca	189	45	98	46	229	292	400	Ind
PACIENTE-125	39	M	Branca	--	--	--	--	--	291	733	1.190
PACIENTE-126	46	M	Branca	287	47	173	67	591	933	1051	Ind
PACIENTE-127	34	M	Branca	--	--	--	--	--	615	724	Ind
PACIENTE-128	37	F	Branca	190	37	74	79	494	462	731	95
PACIENTE-129	47	M	Mestiço	157	32	95	30	148	577	861	Ind
PACIENTE-130	23	M	Branca	168	54	90	24	120	627	560	Ind
PACIENTE-131	42	M	Branca	172	43	111	18	88	105	457	6.120
PACIENTE-132	56	M	Branca	175	27	118	30	319	944	2008	Ind
PACIENTE-133	39	F	Branca	220	64	129	27	137	821	1472	Ind

Continua

Continuação											
Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-134	62	F	Branca	--	--	--	--	--	200	598	1.350
PACIENTE-135	39	M	Branca	109	25	59	25	126	722	2862	75.200
PACIENTE-136	44	M	Branca	--	--	--	--	--	242	1054	Ind
PACIENTE-137	44	F	Amarela	--	--	--	--	--	702	538	Ind
PACIENTE-138	42	M	Branca	--	--	--	--	--	402	775	Ind
PACIENTE-139	49	F	Branca	231	56	155	20	100	339	775	Ind
PACIENTE-140	37	M	Negra	173	40	97	36	181	491	561	4.950
PACIENTE-141	51	M	Branca	204	41	123	40	198	477	1043	Ind
PACIENTE-142	41	M	Branca	162	53	77	32	162	491	953	Ind
PACIENTE-143	40	M	Branca	156	32	59	65	604	288	1586	9.910
PACIENTE-144	42	M	Branca	221	57	113	51	254	1052	1533	Ind
PACIENTE-145	44	M	Branca	161	30	90	41	203	639	665	14.300
PACIENTE-146	54	M	Branca	153	21	70	62	491	710	3209	94.000
PACIENTE-147	36	M	Negra	--	--	--	--	--	192	1064	500.000
PACIENTE-148	47	M	Negra	167	30	77	60	298	400	2769	286.000
PACIENTE-149	30	M	Branca	157	43	81	33	164	879	760	Ind
PACIENTE-150	43	M	Branca	--	--	--	--	93	104	93	Ind
PACIENTE-151	36	M	Mestiço	139	60	61	18	91	316	865	23.800
PACIENTE-152	53	M	Branca	188	68	104	16	80	502	682	Ind
PACIENTE-153	39	F	Branca	121	41	66	14	72	600	796	48.700
PACIENTE-154	35	M	Branca	--	--	--	--	--	313	678	Ind
PACIENTE-155	62	M	Branca	--	--	--	--	--	576	864	Ind
PACIENTE-156	45	F	Branca	--	--	--	--	--	358	1490	1.430
PACIENTE-157	34	M	Mestiço	148	43	80	25	125	51	726	42.800
PACIENTE-158	27	F	Branca	171	65	97	9	44	287	601	Ind
PACIENTE-159	26	F	Mestiço	221	47	154	20	101	503	659	Ind
PACIENTE-160	41	M	Branca	202	43	121	38	188	174	799	Ind

Continua

Continuação											
Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-161	35	M	Branca	210	58	133	19	94	735	422	Ind
PACIENTE-162	35	M	Mestiço	145	35	72	38	336	375	890	Ind
PACIENTE-163	39	M	Branca	235	89	102	44	220	586	641	Ind
PACIENTE-164	52	M	Branca	235	52	162	21	106	700	899	Ind
PACIENTE-165	35	F	Branca	233	52	161	20	102	1609	1762	Ind
PACIENTE-166	31	F	Branca	120	37	57	26	132	416	771	31.100
PACIENTE-167	58	M	Branca	--	--	--	--	--	292	1157	20.000
PACIENTE-168	42	M	Branca	182	53	86	43	216	461	1475	Ind
PACIENTE-169	46	M	Negra	184	39	113	32	320	1580	2033	Ind
PACIENTE-170	30	M	Branca	168	36	100	32	158	562	1178	Ind
PACIENTE-171	45	M	Branca	229	32	158	39	194	927	2350	Ind
PACIENTE-172	30	M	Mestiço	140	61	67	12	62	799	1303	Ind
PACIENTE-173	45	M	Branca	137	32	55	50	251	264	956	1.560
PACIENTE-174	52	M	Branca	207	62	121	24	120	926	982	Ind
PACIENTE-175	31	F	Branca	138	71	57	10	49	406	626	23.000
PACIENTE-176	54	M	Branca	203	89	80	34	169	1189	788	Ind
PACIENTE-177	31	F	Branca	206	52	128	26	130	494	998	Ind
PACIENTE-178	39	F	Mestiço	241	66	133	42	210	551	567	Ind
PACIENTE-179	33	M	Branca	186	33	98	55	434	156	1400	44.800
PACIENTE-180	50	M	Mestiço	148	35	86	27	136	657	1440	Ind
PACIENTE-181	43	F	Negra	241	65	135	41	205	571	1239	Ind
PACIENTE-182	53	F	Branca	175	71	78	26	131	1099	1379	Ind
PACIENTE-183	32	M	Branca	136	40	70	26	132	564	1163	Ind
PACIENTE-184	42	M	Branca	--	--	--	--	--	639	1238	25.600
PACIENTE-185	31	F	Branca	171	67	81	23	117	203	506	23.800
PACIENTE-186	32	F	Mestiço	--	--	--	--	--	736	1502	2.510
PACIENTE-187	48	M	Mestiço	170	54	88	28	141	758	687	Ind

Continua

Continuação											
Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-188	56	M	Mestiço	95	31	43	21	107	351	1113	57.300
PACIENTE-189	45	F	Branca	76	23	31	22	110	7	263	122.000
PACIENTE-190	35	M	Branca	--	--	--	--	--	155	1019	51.000
PACIENTE-191	34	F	Branca	--	--	--	--	--	386	345	Ind
PACIENTE-192	26	M	Branca	--	--	--	--	--	845	1911	28.200
PACIENTE-193	31	M	Branca	--	--	--	--	--	536	1021	253.000
PACIENTE-194	45	M	Mestiço	207	50	118	39	504	637	820	Ind
PACIENTE-195	58	M	Branca	239	58	142	39	193	362	987	Ind
PACIENTE-196	36	M	Mestiço	201	58	120	23	113	834	840	Ind
PACIENTE-197	37	M	Branca	231	34	156	41	207	695	1207	3.340
PACIENTE-198	44	M	Branca	162	53	87	22	423	639	1460	Ind
PACIENTE-199	73	M	Branca	--	--	--	--	--	127	1226	Ind
PACIENTE-200	36	M	Branca	--	--	--	--	--	796	895	Ind
PACIENTE-201	53	M	Branca	100	17	31	52	359	433	1197	Ind
PACIENTE-202	22	M	Branca	--	--	--	--	--	463	1457	101.000
PACIENTE-203	42	M	Branca	261	51	152	58	292	478	1160	Ind
PACIENTE-204	46	M	Branca	186	22	105	59	556	380	2355	535
PACIENTE-205	52	M	Mestiço	204	49	98	57	284	633	1180	Ind
PACIENTE-206	43	F	Branca	183	69	87	27	134	555	592	5.010
PACIENTE-207	46	F	Branca	221	57	136	28	139	701	991	67
PACIENTE-208	37	M	Branca	--	--	--	--	--	8	860	135.000
PACIENTE-209	38	F	Mestiço	167	41	112	14	69	430	1233	6.290
PACIENTE-210	29	M	Branca	160	47	95	18	92	474	455	Ind
PACIENTE-211	36	M	Branca	216	39	144	33	333	675	2059	Ind
PACIENTE-212	28	F	Branca	224	40	155	29	375	898	857	Ind
PACIENTE-213	49	M	Branca	189	40	129	20	99	540	1724	21.000
PACIENTE-214	41	F	Amarela	184	65	97	22	112	600	995	Ind

Continua

Continuação											
Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-215	34	M	Branca	168	33	108	27	323	492	751	Ind
PACIENTE-216	55	F	Branca	158	81	62	15	76	307	957	Ind
PACIENTE-217	42	M	Mestiço	164	62	85	17	85	795	773	Ind
PACIENTE-218	35	M	Branca	143	30	67	46	232	564	950	Ind
PACIENTE-219	37	M	Branca	181	38	119	24	120	442	746	25.400
PACIENTE-220	30	M	Branca	--	--	--	--	--	480	1230	Ind
PACIENTE-221	37	F	Mestiço	157	69	78	10	49	405	932	Ind
PACIENTE-222	43	M	Mestiço	199	53	119	27	136	174	715	Ind
PACIENTE-223	48	M	Branca	186	37	115	34	170	508	1222	Ind
PACIENTE-224	56	M	Mestiço	164	32	102	30	149	632	1892	Ind
PACIENTE-225	54	M	Branca	115	37	65	13	64	288	564	Ind
PACIENTE-226	54	M	Negra	274	52	173	49	245	673	517	Ind
PACIENTE-227	46	M	Branca	210	48	121	41	204	581	805	Ind
PACIENTE-228	40	M	Branca	245	52	143	50	251	511	646	Ind
PACIENTE-229	39	M	Mestiço	200	65	119	16	78	601	1019	Ind
PACIENTE-230	31	M	Branca	192	36	98	58	292	325	770	Ind
PACIENTE-231	42	M	Mestiço	--	--	--	--	--	264	960	Ind
PACIENTE-232	42	F	Branca	200	50	128	22	109	374	1143	248.000
PACIENTE-233	24	M	Branca	--	--	--	--	--	498	796	Ind
PACIENTE-234	40	M	Branca	169	74	83	12	60	469	980	3.050
PACIENTE-235	40	M	Branca	141	36	68	37	--	225	1733	80.800
PACIENTE-236	42	M	Mestiço	164	58	77	29	--	238	994	1.280
PACIENTE-237	41	M	Branca	163	69	79	15	77	220	671	Ind
PACIENTE-238	46	M	Branca	--	--	--	--	--	547	852	Ind
PACIENTE-239	55	M	Branca	--	--	--	--	--	845	1011	30.500
PACIENTE-240	39	M	Branca	181	37	85	59	430	58	169	248.000
PACIENTE-241	44	M	Branca	182	49	108	25	--	683	872	Ind

Continua

Continuação											
Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-242	44	M	Branca	192	35	124	33	167	530	1082	Ind
PACIENTE-243	31	M	Mestiço	--	--	--	--	--	260	797	Ind
PACIENTE-244	40	F	Branca	151	66	74	11	55	526	389	Ind
PACIENTE-245	37	M	Mestiço	166	42	92	32	158	629	770	Ind
PACIENTE-246	40	M	Negra	--	--	--	--	--	114	654	196.000
PACIENTE-247	39	F	Branca	153	77	63	13	66	1171	876	117.000
PACIENTE-248	36	M	Branca	168	52	104	12	58	534	1011	Ind
PACIENTE-249	46	M	Mestiço	129	28	51	50	--	188	429	26.400
PACIENTE-250	49	M	Branca	--	--	--	--	--	258	494	Ind
PACIENTE-251	44	F	Mestiço	--	--	--	--	--	545	901	Ind
PACIENTE-252	46	M	Branca	234	37	156	41	203	582	484	Ind
PACIENTE-253	52	F	Mestiço	152	70	60	22	--	316	703	Ind
PACIENTE-254	30	F	Branca	154	30	80	44	--	510	1060	Ind
PACIENTE-255	28	F	Branca	201	61	112	28	--	464	847	Ind
PACIENTE-256	28	M	Branca	151	45	88	18	--	462	819	Ind
PACIENTE-257	35	M	Mestiço	164	41	81	42	--	706	1062	Ind
PACIENTE-258	45	M	Branca	145	30	73	42	399	691	1324	Ind
PACIENTE-259	49	M	Branca	150	--	--	--	--	--	--	--
PACIENTE-260	36	F	Branca	151	65	50	36	179	734	1414	Ind
PACIENTE-261	41	F	Mestiço	154	50	90	14	--	113	431	Ind
PACIENTE-262	32	M	Mestiço	160	33	71	56	282	555	802	Ind
PACIENTE-263	58	M	Branca	191	38	130	23	117	276	860	Ind
PACIENTE-264	44	F	Branca	187	77	92	18	--	294	598	Ind
PACIENTE-265	23	M	Branca	--	--	--	--	--	587	786	Ind
PACIENTE-266	42	M	Mestiço	158	48	79	31	155	354	3435	44.300
PACIENTE-267	36	M	Branca	155	37	68	50	248	334	747	572
PACIENTE-268	39	F	Mestiço	155	41	82	32	158	704	573	Ind

Continua

Continuação											
Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-269	39	M	Negra	102	29	43	30	--	279	943	132.000
PACIENTE-270	49	M	Mestiço	192	47	110	35	--	532	684	Ind
PACIENTE-271	40	M	Branca	--	--	--	--	--	329	649	94.400
PACIENTE-272	44	M	Branca	199	46	131	22	110	1190	599	Ind
PACIENTE-273	61	F	Branca	132	34	55	43	--	310	615	Ind
PACIENTE-274	46	M	Branca	105	28	39	38	191	793	1289	16.900
PACIENTE-275	37	M	Branca	213	35	159	19	93	386	1776	129.000
PACIENTE-276	30	M	Mestiço	--	--	--	--	--	405	1159	Ind
PACIENTE-277	38	M	Branca	--	--	--	--	--	581	618	4.080
PACIENTE-278	38	M	Negra	--	--	--	--	--	868	774	Ind
PACIENTE-279	34	F	Mestiço	135	48	55	32	--	640	1016	Ind
PACIENTE-280	52	M	Mestiço	148	59	74	15	74	66	431	99.600
PACIENTE-281	50	M	Branca	244	76	129	39	197	719	1242	Ind
PACIENTE-282	19	F	Mestiço	--	--	--	--	--	663	478	Ind
PACIENTE-283	27	M	Branca	136	51	74	11	--	701	608	Ind
PACIENTE-284	72	M	Branca	--	--	--	--	--	745	703	Ind
PACIENTE-285	35	M	Mestiço	158	59	93	6	--	761	993	Ind
PACIENTE-286	45	M	Branca	136	40	84	12	61	590	704	41.600
PACIENTE-287	47	M	Mestiço	234	49	140	45	225	591	547	Ind
PACIENTE-288	56	M	Branca	--	--	--	--	--	75	297	294.000
PACIENTE-289	34	F	Branca	174	43	109	22	108	662	821	Ind
PACIENTE-290	37	F	Branca	107	42	47	18	--	155	1370	Ind
PACIENTE-291	44	M	Mestiço	125	35	71	19	96	475	748	4.780
PACIENTE-292	35	M	Branca	217	47	125	45	223	432	1394	18.300
PACIENTE-293	41	M	Branca	155	88	53	14	72	402	1120	Ind
PACIENTE-294	34	M	Mestiço	276	51	190	35	--	223	1076	Ind
PACIENTE-295	37	F	Mestiço	154	34	82	38	--	981	469	Ind

Continua

Continuação											
Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-296	44	M	Branca	--	--	--	--	--	--	--	--
PACIENTE-297	44	M	Branca	186	45	103	38	--	321	1078	Ind
PACIENTE-298	52	F	Branca	108	30	60	18	--	1098	398	Ind
PACIENTE-299	38	M	Negra	161	48	70	43	214	382	763	Ind
PACIENTE-300	42	M	Branca	194	52	95	47	233	436	949	Ind
PACIENTE-301	49	M	Branca	204	45	134	25	308	425	516	Ind
PACIENTE-302	36	M	Mestiço	189	42	103	44	--	669	1020	Ind
PACIENTE-303	52	F	Branca	195	36	109	50	--	273	586	1.100.000
PACIENTE-304	37	M	Branca	--	--	--	--	--	1112	2678	5.920
PACIENTE-305	31	M	Mestiço	177	64	95	18	89	577	492	Ind
PACIENTE-306	56	M	Branca	189	65	87	37	186	699	887	Ind
PACIENTE-307	31	F	Branca	--	--	--	--	--	529	544	3.450
PACIENTE-308	25	M	Mestiço	197	49	124	24	122	311	820	14.900
PACIENTE-309	40	M	Negra	121	34	63	24	121	662	1249	114.000
PACIENTE-310	33	M	Mestiço	154	38	80	36	182	60	1132	211.000
PACIENTE-311	35	F	Mestiço	194	50	127	17	86	409	500	Ind
PACIENTE-312	28	M	Branca	178	41	106	31	155	836	763	Ind
PACIENTE-313	44	M	Branca	212	58	131	23	116	488	605	Ind
PACIENTE-314	31	M	Mestiço	113	31	49	33	166	45	952	Ind
PACIENTE-315	41	M	Branca	176	35	128	13	65	533	192	Ind
PACIENTE-316	58	M	Branca	123	24	61	38	190	389	2132	252.000
PACIENTE-317	61	M	Branca	169	41	109	19	95	196	926	Ind
PACIENTE-318	33	M	Branca	208	62	133	13	63	371	638	Ind
PACIENTE-319	53	M	Branca	244	53	151	40	200	348	1333	Ind
PACIENTE-320	32	M	Branca	226	63	141	22	111	502	620	Ind
PACIENTE-321	54	F	Negra	262	69	193	0	111	469	672	Ind
PACIENTE-322	45	M	Branca	214	67	101	46	229	331	911	Ind

Continua

Continuação											
Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-323	35	M	Branca	125	31	55	39	193	12	326	265.000
PACIENTE-324	38	M	Branca	177	39	101	37	185	300	1924	653
PACIENTE-325	47	M	Branca	163	75	72	16	82	769	1096	Ind
PACIENTE-326	43	M	Branca	188	50	113	25	125	534	1319	Ind
PACIENTE-327	49	M	Branca	136	29	63	44	219	365	616	Ind
PACIENTE-328	37	F	Branca	154	40	71	43	214	775	621	Ind
PACIENTE-329	48	M	Mestiço	234	60	152	22	110	871	743	Ind
PACIENTE-330	46	M	Mestiço	166	47	96	23	113	831	1175	Ind
PACIENTE-331	35	M	Branca	205	47	121	37	184	169	769	Ind
PACIENTE-332	52	M	Branca	247	57	142	48	465	147	989	Ind
PACIENTE-333	37	M	Branca	157	29	99	29	147	533	1250	4.700
PACIENTE-334	48	M	Mestiço	326	51	216	59	583	624	820	Ind
PACIENTE-335	40	M	Branca	173	39	116	18	91	388	1074	120.000
PACIENTE-336	42	M	Branca	116	36	59	21	105	453	918	Ind
PACIENTE-337	41	M	Branca	158	31	86	41	206	160	675	9.990
PACIENTE-338	26	M	Branca						584	904	Ind
PACIENTE-339	42	M	Branca	188	39	91	58	289	1342	1911	Ind
PACIENTE-340	21	M	Branca	--	--	--	--	--	57	627	885.000
PACIENTE-341	36	F	Mestiço	96	32	53	11	56	424	937	14.600
PACIENTE-342	33	F	Branca	227	70	136	21	103	863	571	Ind
PACIENTE-343	54	M	Branca	219	51	119	49	246	684	356	Ind
PACIENTE-344	55	F	Branca	212	47	135	30	148	883	1021	Ind
PACIENTE-345	33	M	Branca	197	38	129	30	151	749	748	Ind
PACIENTE-346	42	F	Mestiço	207	79	114	14	70	470	604	Ind
PACIENTE-347	38	M	Branca	224	38	152	34	433	851	1771	Ind
PACIENTE-348	33	M	Branca	267	47	205	15	311	362	829	Ind
PACIENTE-349	42	M	Branca	124	34	62	28	139	249	938	Ind

Continua

Continuação											
Código	Idade	Sexo	Raça	Col	HDL	LDL	VLDL	TG	CD4+	CD8+	C. viral
PACIENTE-350	39	M	Branca	169	30	94	45	224	180	0	31.100
PACIENTE-351	53	M	Branca	163	42	88	33	166	511	1963	1.150

Col: colesterol total em mg/dL (valores de referência: desejável – inferior a 200 mg/dL; limítrofe – 200 a 239 mg/dL; elevado – superior a 240 mg/dL); **HDL:** HDL-colesterol em mg/dL (valores de referência: sem risco – superior a 55 mg/dL; risco moderado – 35 a 55 mg/dL; risco elevado – inferior a 35 mg/dL); **LDL:** LDL-colesterol em mg/dL (valores de referência: sem risco – inferior a 130 mg/dL; risco moderado – 130 a 159 mg/dL; risco elevado – superior a 159 mg/dL); **VLDL:** VLDL-colesterol em mg/dL (valores de referência: sem risco – inferior a 40 mg/dL); **TG:** triglicérides em mg/dL (valores de referência: desejável – inferior a 150 mg/dL; limítrofe: 150 a 200 mg/dL; elevado: 200 a 499 mg/dL; alto risco: superior a 500 mg/dL); **CD4+:** contagem do número de células CD4+ (valores de referência: 410 a 1590 células); **CD8+:** contagem do número de células CD8+ (valores de referência: 190 a 1140 células); **Carga viral:** contagem do número de partículas do vírus HIV em cópias por ml (ind: indetectável – abaixo de 400 cópias/ml).

Anexo B – Nome e classe dos medicamentos antiretrovirais (ARV) administrados aos pacientes (n=350) à época da coleta das amostras

Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-001	Lamivudina + zidovudina, tenofovir, ritonavir, atazanavir	3ITRN, 2IP
PACIENTE-002	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-003	Estavudina, didanosina, lopinavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-004	Tenofovir, lamivudina, didanosina, lopinavir	3ITRN, 2IP
PACIENTE-005	Estavudina, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-006	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-007	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-008	Estavudina, lamivudina, indinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-009	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-010	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-011	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-012	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-013	Estavudina, lamivudina, didanosina, ritonavir, mprenavir	3ITRN, 2IP
PACIENTE-014	lamivudina, didanosina, Lopinavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-015	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-016	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-017	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-018	Estavudina, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-019	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-020	Lamivudina + zidovudina, ritonavir, atazanavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-021	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-022	tenofovir, lamivudina, efavirenz, ritonavir, amprenavir	2ITRN, 1ITRNN, 2IP
PACIENTE-023	estavudina, lamivudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-024	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-025	Estavudina, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-026	Estavudina, didanosina, efavirenz, lopinavir	2ITRN, 1ITRNN, 2IP

Continua

		Continuação
Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-027	Lamivudina + zidovudina, lopinavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-028	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-029	lamivudina, amprenavir, tenofovir, lopinavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-030	Lamivudina + zidovudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-031	tenofovir, lamivudina, didanosina, efavirenz	3ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-032	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-033	Estavudina, lamivudina, indinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-034	Lamivudina + zidovudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-035	Lamivudina + zidovudina, atazanavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-036	Estavudina, didanosina, ritonavir, indinavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-037	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-038	Lamivudina + zidovudina, lopinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-039	lamivudina, didanosina, nevirapina, lopinavir/r	2ITRN, 1ITRNN, 2IP
PACIENTE-040	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-041	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-042	Estavudina, lamivudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-043	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-044	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-045	Tenofovir, lamivudina, ritonavir, saquinavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-046	Estavudina, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-047	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-048	Estavudina, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-049	Lamivudina + zidovudina, efavirenz, lopinavir/r	2ITRN, 1ITRNN, 2IP
PACIENTE-050	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-051	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-052	Lamivudina + zidovudina, atazanavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-053	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN

Continua

		Continuação
Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-054	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-055	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-056	Lamivudina, atazanavir, tenofovir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-057	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-058	Estavudina, lamivudina, atazanavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-059	Lamivudina + zidovudina, ritonavir, indinavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-060	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-061	lamivudina, abacavir, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-062	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-063	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-064	Estavudina, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-065	Lamivudina + zidovudina, indinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-066	Estavudina, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-067	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-068	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-069	Estavudina, lamivudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-070	Tenofovir, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-071	Lamivudina + zidovudina, atazanavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-072	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-073	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-074	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-075	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-076	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-077	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-078	Tenofovir, lamivudina, efavirenz, lopinavir/r	2ITRN, 1ITRNN, 2IP
PACIENTE-079	Lamivudina + zidovudina, abacavir	3ITRN
PACIENTE-080	Lamivudina, didanosina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP

Continua

		Continuação
Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-081	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-082	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-083	Zidovudina, didanosina	2ITRN
PACIENTE-084	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-085	Lamivudina + zidovudina, tenofovir, efavirenz	3ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-086	Didanosina, abacavir, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-087	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-088	Tenofovir, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-089	Lamivudina + zidovudina, ritonavir, atazanavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-090	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-091	Lamivudina + zidovudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-092	Zidovudina, didanosina	2ITRN
PACIENTE-093	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-094	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-095	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-096	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-097	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-098	Lamivudina + zidovudina, atazanavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-099	Tenofovir, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-100	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-101	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-102	Zidovudina, didanosina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-103	DIDANOSINA, efavirenz, lopinavir/r	1ITRN, 1ITRNN, 2IP
PACIENTE-104	Estavudina, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-105	Estavudina, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-106	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-107	Zidovudina, didanosina	2ITRN

Continua

		Continuação
Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-108	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-109	lamivudina, efavirenz, tenofovir, lopinavir/r	2ITRN, 1ITRNN, 1IP
PACIENTE-110	Estavudina, didanosina, indinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-111	Lamivudina + zidovudina, abacavir, lopinavir/r	3ITRN, 2IP
PACIENTE-112	Zidovudina, zalcitabina	2ITRN
PACIENTE-113	Lamivudina + zidovudina, ritonavir, indinavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-114	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-115	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-116	Lamivudina + zidovudina, tenofovir, lopinavir/r	3ITRN, 2IP
PACIENTE-117	Lamivudina + zidovudina, tenofovir, efavirenz	3ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-118	Didanosina, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 1IP
PACIENTE-119	Estavudina, didanosina, nevirapina, nelfinavir	2ITRN, 1ITRNN, 1IP
PACIENTE-120	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-121	Didanosina, abacavir, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-122	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-123	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-125	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-126	Tenofovir, efavirenz, ritonavir, atazanavir	1ITRN, 1ITRNN, 2IP
PACIENTE-127	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-128	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-129	Estavudina, didanosina, ritonavir, indinavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-130	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-131	Lamivudina + zidovudina, ritonavir, amprenavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-132	lamivudina, lopinavir/r, tenofovir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-133	Lamivudina + zidovudina, indinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-134	Estavudina, didanosina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN

Continua

		Continuação
Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-136	Lamivudina + zidovudina, nevirapina, nelfinavir	2ITRN, 1ITRNN, 1IP
PACIENTE-137	Lamivudina + zidovudina, atazanavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-138	Lamivudina + zidovudina, tenofovir, efavirenz	3ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-139	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-140	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-141	Zidovudina, didanosina, ritonavir, atazanavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-142	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-143	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-144	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-145	Estavudina, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-146	Lamivudina+zidovudina, tenofovir, amprenavir, opinavir/r	3ITRN, 3IP
PACIENTE-147	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-148	Lamivudina + zidovudina, indinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-149	Tenofovir, lamivudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-150	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-151	Didanosina, efavirenz, lopinavir/r	1ITRN, 1ITRNN, 2IP
PACIENTE-152	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-153	Lamivudina + zidovudina, indinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-154	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-155	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-156	Lamivudina + zidovudina, zidovudina, ritonavir, tenofovir	4ITRN, IP
PACIENTE-157	Lamivudina + zidovudina, tenofovir, ritonavir, atazanavir	3ITRN, 2IP
PACIENTE-158	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-159	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-160	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-161	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-162	Tenofovir, lamivudina, saquinavir, lopinavir/r	2ITRN, 3IP

Continua

		Continuação
Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-163	Estavudina, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-164	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-165	Estavudina, lamivudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-166	Tenofovir, lamivudina, abacavir, atazanavir	3ITRN, 1IP
PACIENTE-167	Lamivudina + zidovudina, tenofovir, ritonavir, amprenavir	3ITRN, 2IP
PACIENTE-168	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-169	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-170	Lamivudina + zidovudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-171	Lamivudina + zidovudina, indinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-172	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-173	Tenofovir, lamivudina, didanosina, lopinavir/r	3ITRN, 2IP
PACIENTE-174	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-175	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-176	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-177	Tenofovir, lamivudina, ritonavir, atazanavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-178	Lamivudina + zidovudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-179	Lamivudina + zidovudina, efavirenz, lopinavir/r	2ITRN, 1ITRNN, 2IP
PACIENTE-180	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-181	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-182	lamivudina, abacavir, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-183	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-184	Estavudina, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-185	Lamivudina + zidovudina, ritonavir, indinavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-186	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-187	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-188	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-189	Estavudina, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP

Continua

Continuação		
Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-190	lamivudina, didanosina, ritonavir, amprenavir, lopinavir/r	2ITRN, 4IP
PACIENTE-191	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-192	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-193	Lamivudina + zidovudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-194	Lamivudina + zidovudina, ritonavir, indinavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-195	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-196	Lamivudina + zidovudina, didanosina, efavirenz	3ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-197	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-198	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-199	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-200	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-201	Estavudina, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-202	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-203	Lamivudina + zidovudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-204	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-205	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-206	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-207	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-208	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-209	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-210	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-211	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-212	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-213	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-214	Estavudina, lamivudina, ritonavir, indinavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-215	Lamivudina + zidovudina, tenofovir, ritonavir, atazanavir	3ITRN, 2IP

Continua

		Continuação
Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-216	Lamivudina + zidovudina, abacavir	3ITRN
PACIENTE-217	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-218	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-219	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-220	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-221	Estavudina, didanosina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-222	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-223	Tenofovir, didanosina, ritonavir, zidovudina	3ITRN, 1IP
PACIENTE-224	Lamivudina + zidovudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-225	Estavudina, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-226	Tenofovir, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-227	Lamivudina + zidovudina, abacavir	3ITRN
PACIENTE-228	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-229	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-230	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-231	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-232	Tenofovir, lamivudina, ritonavir, amprenavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-233	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-234	Zidovudina, didanosina	2ITRN
PACIENTE-235	Tenofovir, lamivudina, zidovudina, lopinavir/r	3ITRN, 2IP
PACIENTE-236	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-237	Lamivudina + zidovudina, atazanavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-238	Lamivudina + zidovudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-239	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-240	Tenofovir, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-241	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-242	Lamivudina + zidovudina, atazanavir	2ITRN, 1IP

Continua

		Continuação
Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-243	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-244	Tenofovir, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-245	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-246	Tenofovir, lamivudina, efavirenz, lopinavir/r	2ITRN, 1ITRNN, 2IP
PACIENTE-247	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-248	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-249	Lamivudina + zidovudina, atazanavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-250	Tenofovir, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-251	Zidovudina, didanosina	2ITRN
PACIENTE-252	Lamivudina + zidovudina, tenofovir, efavirenz	3ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-253	Lamivudina + zidovudina, atazanavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-254	Lamivudina + zidovudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-255	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-256	Estavudina, lamivudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-257	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-258	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-259	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-260	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-261	Tenofovir, lamivudina, efavirenz, ritonavir, atazanavir	2ITRN, 1ITRNN, 2IP
PACIENTE-262	Tenofovir, lamivudina, ritonavir, atazanavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-263	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-264	Estavudina, lamivudina, abacavir	3ITRN
PACIENTE-265	Estavudina, lamivudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-266	Tenofovir, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-267	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-268	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-269	Estavudina, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP

Continua

		Continuação
Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-270	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-271	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-272	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-273	Lamivudina + zidovudina, abacavir	3ITRN
PACIENTE-274	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-275	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-276	Estavudina, didanosina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-277	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-278	Estavudina, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-279	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-280	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-281	Estavudina, didanosina, nevirapina, nelfinavir	2ITRN, 1ITRNN, 1IP
PACIENTE-282	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-283	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-284	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-285	Tenofovir, lamivudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-286	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-287	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-288	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-289	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-290	Tenofovir, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-291	Zidovudina, DIDANOSINA	2ITRN
PACIENTE-292	Zidovudina, didanosina	2ITRN
PACIENTE-293	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-294	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-295	Estavudina, didanosina, ritonavir, indinavir	2ITRN, 2IP

Continua

		Continuação
Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-296	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-297	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-298	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-299	Lamivudina + zidovudina, ritonavir, indinavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-300	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-301	Tenofovir, lamivudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-302	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-303	Estavudina, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-304	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-305	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-306	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-307	Lamivudina + zidovudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-308	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-309	Estavudina, lamivudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-310	Estavudina, abacavir, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-311	Estavudina, didanosina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-312	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-313	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-314	Lamivudina + zidovudina, tenofovir, ritonavir, atazanavir	3ITRN, 2IP
PACIENTE-315	Tenofovir, lamivudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-316	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-317	Lamivudina + zidovudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-318	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-319	Zidovudina, didanosina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-320	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-321	Estavudina, lamivudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-322	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP

Continua

Continuação		
Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-323	Lamivudina + zidovudina, tenofovir, saquinavir, opinavir/r	3ITRN, 3IP
PACIENTE-324	Tenofovir, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-325	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-326	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-327	Lamivudina + zidovudina, indinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-328	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-329	Estavudina, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-330	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-331	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-332	Tenofovir, lopinavir/r, didanosina	2ITRN, 2IP
PACIENTE-333	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-334	lamivudina, abacavir, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-335	SEM REG MEDIC	SEM REG MEDIC
PACIENTE-336	Tenofovir, lamivudina, ritonavir, atazanavir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-337	Tenofovir, lamivudina, lopinavir/r	2ITRN, 2IP
PACIENTE-338	Estavudina, lopinavir/r, tenofovir	2ITRN, 2IP
PACIENTE-339	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-340	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-341	Zidovudina	1ITRN
PACIENTE-342	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-343	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-344	Tenofovir, lamivudina, nevirapina	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-345	Estavudina, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-346	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-347	Lamivudina + zidovudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN
PACIENTE-348	Estavudina, lamivudina, efavirenz	2ITRN, 1ITRNN

Continua

		Continuação
Código	Medicamentos antiretrovirais à época da coleta	Classes de ARV
PACIENTE-349	Lamivudina + zidovudina, nelfinavir	2ITRN, 1IP
PACIENTE-350	Lamivudina + zidovudina, lopinavir/r	2ITRN, 1IP
PACIENTE-351	Didanosina, efavirenz, lopinavir/r	1ITRN, 1ITRNN, 2IP

ITRN – inibidor de transcriptase reversa análogo de nucleosídeo; **ITRNN** – inibidor da transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo; **IP** – inibidores de protease.

Anexo C – Dados gerais (sexo, idade e raça) e resultados das determinações de colesterol total, frações de colesterol e triglicérides sobre os portadores de HIV ao diagnóstico (n=32)

Código	Idade	Sexo	Colesterol	HDL	LDL	VLDL	TG
PORT HIV-001	32	M	177	49	111	22	109
PORT HIV-002	21	M	155	56	82	15	76
PORT HIV-003	24	M	145	34	88	19	93
PORT HIV-004	23	M	122	38	72	10	51
PORT HIV-005	26	M	177	49	111	22	109
PORT HIV-006	27	F	120	47	60	11	54
PORT HIV-007	25	M	182	45	121	14	72
PORT HIV-008	22	M	135	30	66	29	146
PORT HIV-009	19	M	163	28	121	12	62
PORT HIV-011	42	M	199	30	140	24	118
PORT HIV-013	49	F	185	37	119	29	146
PORT HIV-014	42	F	147	69	78	9	47
PORT HIV-015	42	M	203	45	138	18	90
PORT HIV-016	21	M	187	42	107	35	176
PORT HIV-017	25	M	136	34	85	17	84
PORT HIV-018	21	M	182	45	121	14	72
PORT HIV-019	39	F	138	47	81	10	50
PORT HIV-021	32	F	166	58	92	16	80
PORT HIV-022	57	F	235	46	143	36	179
PORT HIV-025	37	M	175	48	108	21	106

Continua

Continuação							
Código	Idade	Sexo	Colesterol	HDL	LDL	VLDL	TG
PORT HIV-026	35	M	154	38	97	21	105
PORT HIV-027	22	M	131	34	80	20	99
PORT HIV-028	38	M	181	34	80	47	236
PORT HIV-029	25	F	200	69	87	44	220
PORT HIV-030	31	M	200	45	138	15	75
PORT HIV-031	32	M	182	31	133	18	88
PORT HIV-032	33	M	132	41	65	19	96
PORT HIV-034	26	M	97	32	47	17	85
PORT HIV-035	19	M	147	32	87	23	114
PORT HIV-036	37	F	178	27	95	52	261
PORT HIV-037	20	M	152	38	93	17	84
PORT HIV-038	19	F	191	27	97	74	368

Colesterol: colesterol total em mg/dL (valores de referência: desejável – inferior a 200 mg/dL; limítrofe – 200 a 239 mg/dL; elevado – superior a 240 mg/dL); **HDL:** HDL-colesterol em mg/dL (valores de referência: sem risco – superior a 55 mg/dL; risco moderado – 35 a 55 mg/dL; risco elevado – inferior a 35 mg/dL); **LDL:** LDL-colesterol em mg/dL (valores de referência: sem risco – inferior a 130 mg/dL; risco moderado – 130 a 159 mg/dL; risco elevado – superior a 159 mg/dL); **VLDL:** VLDL-colesterol em mg/dL (valores de referência: sem risco – inferior a 40 mg/dL); **TG:** triglicérides em mg/dL (valores de referência: desejável – inferior a 150 mg/dL; limítrofe: 150 a 200 mg/dL; elevado: 200 a 499 mg/dL; alto risco: superior a 500 mg/dL;).

Anexo D – Dados gerais sobre os indivíduos saudáveis (sexo, idade e raça), resultados das determinações de colesterol total, frações de colesterol e triglicérides (n=179)

Código	Idade	Colesterol	HDL	LDL	TG
SAUDÁVEIS – 007	22	137	48	75	57
SAUDÁVEIS – 008	28	96	29	42	100
SAUDÁVEIS – 010	45	187	35	132	132
SAUDÁVEIS – 012	39	154	34	66	237
SAUDÁVEIS – 014	40	213	41	156	84
SAUDÁVEIS – 015	48	234	31	173	138
SAUDÁVEIS – 016	36	155	34	70	187
SAUDÁVEIS – 019	54	149	46	75	123
SAUDÁVEIS – 020	21	118	37	72	52
SAUDÁVEIS – 021	40	240	52	175	78
SAUDÁVEIS – 028	41	143	40	85	99
SAUDÁVEIS – 029	36	131	42	75	64
SAUDÁVEIS – 031	57	196	55	96	221
SAUDÁVEIS – 032	28	127	46	75	46
SAUDÁVEIS – 033	29	135	56	67	65
SAUDÁVEIS – 036	29	235	39	170	137
SAUDÁVEIS – 039	36	222	28	92	474
SAUDÁVEIS – 040	25	128	36	79	78
SAUDÁVEIS – 041	51	179	51	119	76
SAUDÁVEIS – 042	28	123	48	66	54

Continua

Código	Idade	Colesterol	HDL	Continuação	
				LDL	TG
SAUDÁVEIS – 043	32	185	34	128	95
SAUDÁVEIS – 044	20	139	46	72	67
SAUDÁVEIS – 045	19	131	47	75	51
SAUDÁVEIS – 046	34	208	28	43	562
SAUDÁVEIS – 047	28	149	43	80	111
SAUDÁVEIS – 048	50	178	40	113	122
SAUDÁVEIS – 049	21	128	57	60	51
SAUDÁVEIS – 050	20	125	42	74	62
SAUDÁVEIS – 051	29	192	28	101	337
SAUDÁVEIS – 052	32	178	50	106	87
SAUDÁVEIS – 053	33	180	25	110	159
SAUDÁVEIS – 055	37	227	37	155	202
SAUDÁVEIS – 056	32	167	44	99	79
SAUDÁVEIS – 058	54	285	53	190	141
SAUDÁVEIS – 060	35	174	40	85	203
SAUDÁVEIS – 061	50	139	41	58	163
SAUDÁVEIS – 062	36	130	37	64	114
SAUDÁVEIS – 064	26	159	43	60	194
SAUDÁVEIS – 065	19	119	36	60	56
SAUDÁVEIS – 067	42	152	23	67	189
SAUDÁVEIS – 079	26	144	39	88	75
SAUDÁVEIS – 080	30	166	30	106	109

Continua

Código	Idade	Colesterol	HDL	Continuação	
				LDL	TG
SAUDÁVEIS – 082	30	151	33	76	134
SAUDÁVEIS – 085	35	183	33	119	145
SAUDÁVEIS – 086	27	136	48	81	52
SAUDÁVEIS – 108	33	152	32	93	94
SAUDÁVEIS – 110	43	185	32	129	112
SAUDÁVEIS – 112	30	151	33	94	114
SAUDÁVEIS – 114	51	216	39	110	249
SAUDÁVEIS – 115	37	164	36	103	97
SAUDÁVEIS – 116	27	163	32	94	150
SAUDÁVEIS – 118	61	188	57	89	177
SAUDÁVEIS – 119	41	167	42	105	103
SAUDÁVEIS – 120	36	250	30	113	361
SAUDÁVEIS – 121	29	143	44	85	113
SAUDÁVEIS – 122	20	132	51	75	65
SAUDÁVEIS – 123	30	167	34	112	133
SAUDÁVEIS – 124	52	296	38	230	202
SAUDÁVEIS – 125	29	157	50	82	169
SAUDÁVEIS – 126	23	103	44	64	76
SAUDÁVEIS – 127	30	158	38	89	112
SAUDÁVEIS – 128	33	158	22	139	150
SAUDÁVEIS – 129	38	228	29	129	282
SAUDÁVEIS – 130	26	163	30	98	220

Continua

Continuação					
Código	Idade	Colesterol	HDL	LDL	TG
SAUDÁVEIS – 131	37	209	36	95	370
SAUDÁVEIS – 132	30	127	58	55	65
SAUDÁVEIS – 133	46	175	49	110	130
SAUDÁVEIS – 134	39	201	38	109	201
SAUDÁVEIS – 135	33	169	32	116	131
SAUDÁVEIS – 136	36	167	43	87	184
SAUDÁVEIS – 137	25	187	40	92	386
SAUDÁVEIS – 138	27	154	55	101	66
SAUDÁVEIS – 139	30	215	34	148	153
SAUDÁVEIS – 140	28	139	49	83	74
SAUDÁVEIS – 141	37	214	47	127	165
SAUDÁVEIS – 142	45	248	48	173	186
SAUDÁVEIS – 143	35	179	41	123	110
SAUDÁVEIS – 145	32	177	33	134	93
SAUDÁVEIS – 146	27	129	53	58	100
SAUDÁVEIS – 147	32	181	36	99	368
SAUDÁVEIS – 149	32	201	34	130	184
SAUDÁVEIS – 150	24	165	32	113	98
SAUDÁVEIS – 151	32	147	50	78	95
SAUDÁVEIS – 152	23	153	32	95	130
SAUDÁVEIS – 153	25	121	44	57	102
SAUDÁVEIS – 154	22	106	50	42	70

Continua

Continuação					
Código	Idade	Colesterol	HDL	LDL	TG
SAUDÁVEIS – 155	23	128	52	51	64
SAUDÁVEIS – 156	27	156	48	86	111
SAUDÁVEIS – 157	38	214	97	102	74
SAUDÁVEIS – 158	39	202	52	142	77
SAUDÁVEIS – 159	24	138	20	39	276
SAUDÁVEIS – 160	50	223	25	127	300
SAUDÁVEIS – 161	38	157	33	90	176
SAUDÁVEIS – 162	38	212	37	160	83
SAUDÁVEIS – 163	27	114	37	68	62
SAUDÁVEIS – 164	32	160	25	91	186
SAUDÁVEIS – 165	38	205	31	151	155
SAUDÁVEIS – 166	46	185	38	109	156
SAUDÁVEIS – 167	34	124	37	77	59
SAUDÁVEIS – 168	30	190	42	141	115
SAUDÁVEIS – 169	41	235	52	163	110
SAUDÁVEIS – 170	26	249	40	191	167
SAUDÁVEIS – 171	21	132	41	70	81
SAUDÁVEIS – 173	35	232	34	170	121
SAUDÁVEIS – 175	26	153	25	81	135
SAUDÁVEIS – 176	55	237	25	145	209
SAUDÁVEIS – 177	49	369	43	260	312
SAUDÁVEIS – 179	43	197	36	97	228
Continua					

Continuação					
Código	Idade	Colesterol	HDL	LDL	TG
SAUDÁVEIS – 180	32	181	45	103	159
SAUDÁVEIS – 183	57	174	34	116	108
SAUDÁVEIS – 184	26	129	64	57	82
SAUDÁVEIS – 185	46	142	25	84	192
SAUDÁVEIS – 186	45	188	32	132	122
SAUDÁVEIS – 187	42	229	44	153	130
SAUDÁVEIS – 188	34	266	36	201	166
SAUDÁVEIS – 189	43	261	28	163	227
SAUDÁVEIS – 190	23	168	29	93	187
SAUDÁVEIS – 191	48	195	33	119	174
SAUDÁVEIS – 194	58	184	59	109	101
SAUDÁVEIS – 195	40	194	75	78	150
SAUDÁVEIS – 196	60	201	28	76	327
SAUDÁVEIS – 197	42	191	40	106	210
SAUDÁVEIS – 199	24	188	45	139	55
SAUDÁVEIS – 201	22	108	36	54	92
SAUDÁVEIS – 202	43	148	33	82	166
SAUDÁVEIS – 204	25	108	35	52	106
SAUDÁVEIS – 205	65	181	41	94	178
SAUDÁVEIS – 207	31	155	34	76	226
SAUDÁVEIS – 208	29	184	49	94	203
SAUDÁVEIS – 209	33	154	43	83	141

Continua

Continuação					
Código	Idade	Colesterol	HDL	LDL	TG
SAUDÁVEIS – 210	21	151	41	97	64
SAUDÁVEIS – 211	34	192	36	134	117
SAUDÁVEIS – 215	30	112	23	67	134
SAUDÁVEIS – 216	27	150	38	109	90
SAUDÁVEIS – 218	43	285	28	176	378
SAUDÁVEIS – 219	31	136	40	84	76
SAUDÁVEIS – 220	38	161	25	52	400
SAUDÁVEIS – 222	50	236	45	174	79
SAUDÁVEIS – 223	43	204	28	93	319
SAUDÁVEIS – 224	32	195	39	122	126
SAUDÁVEIS – 225	59	176	30	92	169
SAUDÁVEIS – 226	27	172	23	95	203
SAUDÁVEIS – 227	28	222	41	144	148
SAUDÁVEIS – 228	53	186	46	104	124
SAUDÁVEIS – 229	29	200	26	99	247
SAUDÁVEIS – 230	19	90	39	33	48
SAUDÁVEIS – 231	33	259	59	128	360
SAUDÁVEIS – 232	35	214	50	137	104
SAUDÁVEIS – 233	58	183	37	124	81
SAUDÁVEIS – 234	33	165	27	115	89
SAUDÁVEIS – 235	58	189	32	113	192
SAUDÁVEIS – 236	52	160	47	100	61

Continua

Código	Idade	Colesterol	HDL	Continuação	
				LDL	TG
SAUDÁVEIS – 237	24	176	31	103	132
SAUDÁVEIS – 238	28	201	37	121	211
SAUDÁVEIS – 241	40	165	50	95	89
SAUDÁVEIS – 242	42	202	29	116	223
SAUDÁVEIS – 243	54	197	20	100	407
SAUDÁVEIS – 244	22	226	27	114	293
SAUDÁVEIS – 245	23	134	44	87	38
SAUDÁVEIS – 246	29	173	38	101	178
SAUDÁVEIS – 247	20	157	31	98	143
SAUDÁVEIS – 249	20	201	41	142	80
SAUDÁVEIS – 250	20	123	34	86	42
SAUDÁVEIS – 251	28	141	38	93	66
SAUDÁVEIS – 252	41	149	34	93	92
SAUDÁVEIS – 253	28	235	33	172	175
SAUDÁVEIS – 255	31	176	41	111	90
SAUDÁVEIS – 257	28	202	40	161	73
SAUDÁVEIS – 258	32	166	36	112	246
SAUDÁVEIS – 259	24	146	47	97	79
SAUDÁVEIS – 261	62	189	48	113	337
SAUDÁVEIS – 262	32	148	53	84	129
SAUDÁVEIS – 263	28	186	43	133	180
SAUDÁVEIS – 264	32	232	55	174	102

Continua

Código	Idade	Colesterol	HDL	Continuação	
				LDL	TG
SAUDÁVEIS – 265	29	215	47	176	86
SAUDÁVEIS – 266	44	219	46	168	160
SAUDÁVEIS – 267	38	176	58	115	100
SAUDÁVEIS – 270	37	186	92	104	53
SAUDÁVEIS – 271	29	177	46	134	84

Colesterol: colesterol total em mg/dL (valores de referência: desejável – inferior a 200 mg/dL; limítrofe – 200 a 239 mg/dL; elevado – superior a 240 mg/dL); **HDL:** HDL-colesterol em mg/dL (valores de referência: sem risco – superior a 55 mg/dL; risco moderado – 35 a 55 mg/dL; risco elevado – inferior a 35 mg/dL); **LDL:** LDL-colesterol em mg/dL (valores de referência: sem risco – inferior a 130 mg/dL; risco moderado – 130 a 159 mg/dL; risco elevado – superior a 159 mg/dL); **VLDL:** VLDL-colesterol em mg/dL (valores de referência: sem risco – inferior a 40 mg/dL); **TG:** triglicérides em mg/dL (- valores de referência: desejável – inferior a 150 mg/dL; limítrofe: 150 a 200 mg/dL; elevado: 200 a 499 mg/dL; alto risco: superior a 500 mg/dL).

Anexo E – Termo de esclarecimento e livre consentimento empregado para os pacientes

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL

Anexo I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :.....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE
CEP: TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO.:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....)

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA Estudo dos polimorfismos nos genes das paraoxonases 1 e 2 em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana e avaliação do potencial de peroxidação lipídica.

PESQUISADOR: Luciana Morganti Ferreira Maselli

CARGO/FUNÇÃO: Pós-graduando

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 3450

UNIDADE DO HCFMUSP: Serviço de Imunologia Clínica e Alergia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO ☐ RISCO MÍNIMO ☒ RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 03 anos

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:

1. justificativa e os objetivos da pesquisa; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. desconfortos e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos; 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.
1. Este estudo está sendo realizado em pacientes portadores do vírus HIV/AIDS, acompanhados pelos Serviços de Imunologia Clínica e Alergia e de Extensão ao Atendimento de Pacientes HIV/AIDS – Casa da AIDS do HCFMUSP; estudaremos as mudanças nas “gorduras” de seu sangue (colesterol, triglicérides e frações de lipoproteínas). Também serão estudadas as diferentes formas hereditárias (herdadas do pai e da mãe) de um “protetor” destas “gorduras do sangue”, chamado paraoxonase, que pode sofrer mudanças por causa da doença. É importante conhecer o quanto destas mudanças acontecem, porque elas podem fazer com que a gordura do sangue comece a se depositar na parede das artérias (“veias”), o que pode provocar outras complicações e outras doenças (como por exemplo, infarto do coração).
2. Para isto, teremos de realizar os seguintes testes laboratoriais: pesquisa do “protetor de gorduras” no seu sangue, dosagens das gorduras do sangue (colesterol, triglicérides, e frações de lipoproteínas), a capacidade destas gorduras em serem modificadas por substâncias conhecidas no laboratório, a quantidade de ferro, de seu transportador (ferritina) e de seu armazenador (siderofilina) no sangue.
3. O sangue necessário para fazer estes testes de laboratório será coletado uma única vez. Assim, os desconfortos e riscos serão mínimos, sendo apenas os de uma coleta de amostra de sangue.
4. O(A) senhor(a) não terá nenhum benefício imediato, mas estará ajudando uma pesquisa científica que, no futuro, poderá ajudar outras pessoas que tenham a mesma doença.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. Serão dadas, a qualquer tempo, informações sobre os testes de laboratório, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para esclarecer qualquer dúvida. Em caso de dúvida ou informações sobre a pesquisa, favor entrar em contato com Luciana Morganti Ferreira Maselli – fone: 3082-2398.
2. O paciente poderá retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isto lhe traga qualquer prejuízo. Caso o senhor não queira participar do estudo, terá total liberdade de desistir do estudo, a qualquer momento, sem prejuízo do seu acompanhamento médico.
3. Haverá confidencialidade, sigilo e privacidade sobre as informações e resultados de exame. Seus dados pessoais e resultados de exames serão guardados de forma sigilosa, deixando a sua privacidade assegurada.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL

4. Haverá assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, devidos a pesquisa. Está garantida assistência médica nos Serviços de Imunologia e de Extensão ao Atendimento de Pacientes HIV/AIDS – Casa da AIDS, conforme vínculo pré-existente do paciente com o HCFMUSP, caso ocorram problemas de saúde decorrentes da pesquisa.

5. Possibilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa. Como o único sofrimento que o(a) senhor(a) vai ter será o da picada da agulha para coletar a amostra de sangue (tubo sem anticoagulante e tubo com anticoagulante), e sendo o risco desta coleta mínimo, não está prevista indenização.

**V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO
ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE
INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.**

Dr. Luis Vicente Rizzo - Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155 (PAMB) – 8º andar –
bloco 03 - fone: 3069-6225 / 3091-7394.

Prof. Dr. Sérgio Paulo Bydlowski - Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155 (PAMB) – 1 andar
– sl 43 - fone: 3061-5544 r.264/ 3082-2398.

Luciana Morganti Ferreira Maselli - Av Dr Enéas de Carvalho Aguiar, 155 (PAMB) – 1 andar
– sl 43 - fone: 3061-5544 r.264/ 3082-2398.

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de 200 .

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome Legível)
Luciana Morganti Ferreira Maselli

INSTRUÇÕES PARA PREENCHIMENTO
(Resolução Conselho Nacional de Saúde 196, de 10 outubro 1996)

1. Este termo conterá o registro das informações que o pesquisador fornecerá ao sujeito da pesquisa, em linguagem clara e acessível,

evitando-se vocábulos técnicos não compatíveis com o grau de conhecimento do interlocutor.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL

2. A avaliação do grau de risco deve ser minuciosa, levando em conta qualquer possibilidade de intervenção e de dano à integridade física do sujeito da pesquisa.
3. O formulário poderá ser preenchido em letra de forma legível, datilografia ou meios eletrônicos.
4. Este termo deverá ser elaborado em duas vias, ficando uma via em poder do paciente ou seu representante legal e outra deverá ser juntada ao prontuário do paciente.
5. A via do Termo de Consentimento Pós-Informação submetida à análise da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa -CAPPesq deverá ser idêntica àquela que será fornecida ao sujeito da pesquisa.

Anexo F - Termo de esclarecimento e livre consentimento empregado para os doadores de sangue que compuseram a população de saudáveis

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL

Anexo I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO:..... CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD

(.....)

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA Estudo dos polimorfismos nos genes das paraoxonases 1 e 2 em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana e avaliação do potencial de peroxidação lipídica.

PESQUISADOR: Luciana Morganti Ferreira Maselli

CARGO/FUNÇÃO: Pós-graduando

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 3450

UNIDADE DO HCFMUSP: Serviço de Imunologia Clínica e Alergia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO ☐ RISCO MÍNIMO ☒ RISCO MÉDIO ☐
RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 03 anos

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:

2. justificativa e os objetivos da pesquisa; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. desconfortos e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos; 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.
5. A amostra de seu sangue que será coletada faz parte de uma etapa de um estudo que vem sendo realizado em pacientes portadores do vírus HIV/AIDS. **Sendo o(a) senhor(a) uma pessoa saudável**, estaremos estudando as mudanças nas gorduras de seu sangue (colesterol, triglicérides e frações de lipoproteínas) para compararmos com o grupo de pacientes com HIV/AIDS. Este estudo é importante para conhecermos o quanto destas mudanças acontecem no portador de HIV/AIDS, já que elas podem fazer com que a gordura do sangue comece a se depositar na parede das artérias (“veias”), provocando outras complicações e outras doenças (como por exemplo, infarto do coração) que podem piorar o estado de saúde destes pacientes. Ao aceitar participar do estudo, o(a) senhor(a) responderá à perguntas simples sobre a cor de sua pele e sua idade. Também perguntaremos de fuma, uma vez que o fumo altera a ação deste “protetor de gordura”. Todas estas questões são também para comparação com o outro grupo.
6. Serão realizados testes laboratoriais para pesquisar o “protetor de gorduras” no seu sangue, medir as gorduras do sangue (colesterol, triglicérides, e frações de lipoproteínas) e a capacidade destas gorduras em serem modificadas por substâncias conhecidas no laboratório.
7. **O sangue para estes testes será coletado só uma vez, junto com as amostras coletadas na sua doação para fazer os exames da sua bolsa de sangue. Assim, os desconfortos e riscos serão mínimos, sendo os mesmos da sua doação de sangue. Será utilizada a mesma picada feita em seu braço para a doação de sangue, não havendo outra picada de agulha em seus braços e nem outros pedidos de novas amostras de sangue ao senhor.**
8. O(A) senhor(a) não terá nenhum benefício imediato, mas estará ajudando uma pesquisa científica que, no futuro, poderá ajudar outras pessoas.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. Acesso, a qualquer tempo, às informações, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para esclarecer qualquer dúvida. Em caso de dúvida ou informações sobre a pesquisa, favor entrar em contato com Luciana Morganti Ferreira Maselli – Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155 (PAMB) – 1 andar – sala 43 - fone: 3061-5544 r.264/ 3082-2398.
2. O senhor terá liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isto traga qualquer prejuízo à continuidade de assistência.

DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL

3. Salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade. Seus dados pessoais e resultados dos exames serão guardados de forma sigilosa, respeitando sua privacidade.
4. Disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa. Está garantida a assistência médica no Serviço de Imunologia, caso ocorram problemas de saúde decorrentes da pesquisa.
5. Viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa. Cada caso será avaliado isoladamente, quando houver algum dano à saúde decorrente do estudo. O risco do estudo é mínimo.

Dr. Luis Vicente Rizzo - Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155 – 8º andar
– bloco 03 - fone: 3069-6225 / 3091-7394.

Prof. Dr. Sérgio Paulo Bydlowski - Av Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155
(PAMB) – 1 andar – sl 43 - fone: 3061-5544 r.264/ 3082-2398.

Luciana Morganti Ferreira Maselli - Av Dr Enéas de Carvalho Aguiar, 155
(PAMB) – 1 andar sl 43 - fone: 3061-5544 r.264/ 3082-2398.

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de 200 .

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Luciana Morganti Ferreira Maselli
assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome Legível)

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL

INSTRUÇÕES PARA PREENCHIMENTO

(Resolução Conselho Nacional de Saúde 196, de 10 outubro 1996)

1. Este termo conterá o registro das informações que o pesquisador fornecerá ao sujeito da pesquisa, em linguagem clara e acessível, evitando-se vocábulos técnicos não compatíveis com o grau de conhecimento do interlocutor.
2. A avaliação do grau de risco deve ser minuciosa, levando em conta qualquer possibilidade de intervenção e de dano à integridade física do sujeito da pesquisa.
3. O formulário poderá ser preenchido em letra de forma legível, datilografia ou meios eletrônicos.
4. Este termo deverá ser elaborado em duas vias, ficando uma via em poder do paciente ou seu representante legal e outra deverá ser juntada ao prontuário do paciente.
5. A via do Termo de Consentimento Pós-Informação submetida à análise da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa -CAPPesq deverá ser idêntica àquela que será fornecida ao sujeito da pesquisa.

Anexo G – Atividade da paraoxonase e detecção das mutações PON1-192Q/R, PON1-55L/M, PON2-311SC e PON2-148AG em pacientes (n=350)

Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311	PON2-148
PACIENTE-001	153	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-002	138	Q/R	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-003	271	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-004	74	Q/Q	L/L	C/C	G/G
PACIENTE-005	139	R/R	L/L	C/C	A/G
PACIENTE-006	34	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-007	243	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-008	123	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-009	62	Q/R	L/L	C/C	G/G
PACIENTE-010	196	R/R	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-011	70	Q/Q	L/M	C/C	G/G
PACIENTE-012	66	Q/Q	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-013	62	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-014	413	Q/R	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-015	61	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-016	44	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-017	70	Q/Q	L/L	C/C	A/G
PACIENTE-018	143	Q/R	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-019	123	Q/Q	M/M	C/C	A/G
PACIENTE-020	154	Q/Q	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-021	144	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-022	273	Q/Q	L/L	C/C	G/G
PACIENTE-023	114	Q/Q	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-024	341	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-025	52	Q/Q	M/M	S/S	A/A

Continua

Continuação					
Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311	PON2-148
PACIENTE-026	66	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-027	78	Q/Q	M/M	C/C	A/G
PACIENTE-028	138	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-029	191	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-030	165	Q/Q	L/L	C/C	G/G
PACIENTE-031	135	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-032	36	Q/Q	M/M	C/S	A/A
PACIENTE-033	38	Q/Q	M/M	C/C	A/G
PACIENTE-034	394	R/R	M/M	C/C	G/G
PACIENTE-035	123	Q/R	L/L	C/S	A/A
PACIENTE-036	208	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-037	228	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-038	55	Q/Q	M/M	C/C	A/G
PACIENTE-039	200	Q/R	L/L	C/C	A/G
PACIENTE-040	257	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-041	125	Q/R	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-042	70	Q/Q	M/M	C/C	A/G
PACIENTE-043	48	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-044	248	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-045	394	R/R	L/L	C/C	A/G
PACIENTE-046	39	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-047	362	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-048	35	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-049	57	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-050	358	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-051	63	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-052	81	Q/R	L/L	S/S	A/A

Continua

Continuação				
Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311 PON2-148
PACIENTE-053	50	Q/Q	L/M	S/S A/A
PACIENTE-054	142	Q/R	M/M	S/S A/A
PACIENTE-055	90	Q/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-056	44	Q/Q	M/M	C/S A/G
PACIENTE-057	237	Q/R	L/L	C/C G/G
PACIENTE-058	93	Q/R	M/M	S/S A/A
PACIENTE-059	42	Q/Q	M/M	S/S A/A
PACIENTE-060	198	R/R	L/L	C/C G/G
PACIENTE-061	308	R/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-062	195	Q/Q	L/L	S/S G/G
PACIENTE-063	44	Q/Q	M/M	C/S A/A
PACIENTE-064	432	R/R	L/L	C/S G/G
PACIENTE-065	54	Q/Q	M/M	C/S G/G
PACIENTE-066	67	Q/Q	L/L	C/S A/G
PACIENTE-067	49	Q/Q	M/M	S/S A/A
PACIENTE-068	311	R/R	M/M	S/S A/A
PACIENTE-069	64	Q/Q	M/M	C/S A/G
PACIENTE-070	77	Q/Q	L/L	C/S A/G
PACIENTE-071	35	Q/Q	M/M	S/S A/A
PACIENTE-072	109	R/R	M/M	S/S A/A
PACIENTE-073	113	Q/R	L/L	C/C A/G
PACIENTE-074	438	R/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-075	43	Q/Q	M/M	S/S A/A
PACIENTE-076	133	Q/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-077	57	Q/Q	M/M	S/S A/A
PACIENTE-078	48	Q/Q	L/L	C/S A/G
PACIENTE-079	44	Q/Q	M/M	S/S A/A
Continua				

Continuação				
Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311 PON2-148
PACIENTE-080	168	Q/R	L/L	C/S A/G
PACIENTE-081	80	Q/Q	L/L	C/S G/G
PACIENTE-082	142	Q/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-083	178	R/R	M/M	C/S A/G
PACIENTE-084	328	R/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-085	312	Q/Q	M/M	S/S A/G
PACIENTE-086	309	Q/R	M/M	S/S A/A
PACIENTE-087	84	Q/Q	L/L	S/S A/A
PACIENTE-088	70	Q/Q	M/M	C/S A/G
PACIENTE-089	143	Q/Q	M/M	S/S A/A
PACIENTE-090	107	R/R	L/L	C/S A/G
PACIENTE-091	382	R/R	L/L	C/S A/A
PACIENTE-092	141	R/R	L/L	C/S A/G
PACIENTE-093	172	Q/R	L/L	C/S A/G
PACIENTE-094	53	Q/Q	M/M	C/S A/G
PACIENTE-095	215	Q/Q	L/L	C/C A/G
PACIENTE-096	74	Q/Q	M/M	C/S A/G
PACIENTE-097	113	Q/Q	M/M	S/S A/A
PACIENTE-098	209	Q/Q	L/L	S/S A/A
PACIENTE-099	308	R/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-100	59	Q/Q	L/M	S/S A/A
PACIENTE-101	57	Q/Q	L/M	S/S A/A
PACIENTE-102	144	Q/R	L/M	C/C A/G
PACIENTE-103	287	Q/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-104	157	Q/R	L/M	C/C A/G
PACIENTE-105	38	Q/Q	L/M	S/S A/A
PACIENTE-106	214	Q/R	L/L	C/S A/A

Continua

Continuação				
Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311 PON2-148
PACIENTE-107 221	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-108 127	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-109 48	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-110 296	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-111 67	Q/Q	L/M	C/C	A/G
PACIENTE-112 94	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-113 139	Q/R	L/M	C/C	A/G
PACIENTE-114 60	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-115 48	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-116 45	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-117 138	Q/R	L/M	C/C	A/G
PACIENTE-118 125	Q/R	L/M	C/C	A/G
PACIENTE-119 109	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-120 120	Q/R	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-121 59	Q/Q	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-122 45	Q/Q	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-123 148	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-125 330	Q/R	L/L	C/S	A/A
PACIENTE-126 76	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-127 390	R/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-128 129	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-129 76	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-130 298	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-131 21	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-132 34	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-133 66	Q/Q	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-134 20	Q/Q	M/M	S/S	A/A

Continua

Continuação				
Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311 PON2-148
PACIENTE-135 189	R/R	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-136 140	Q/R	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-137 63	Q/Q	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-138 165	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-139 151	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-140 361	R/R	L/L	C/C	A/G
PACIENTE-141 42	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-142 229	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-143 78	Q/Q	L/L	C/C	A/G
PACIENTE-144 68	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-145 95	Q/R	L/M	S/S	A/G
PACIENTE-146 346	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-147 77	Q/Q	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-148 131	Q/R	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-149 74	Q/Q	M/M	C/S	A/A
PACIENTE-150 167	R/R	L/L	C/S	A/A
PACIENTE-151 398	R/R	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-152 74	Q/Q	L/M	C/S	A/A
PACIENTE-153 83	Q/Q	L/L	S/S	A/G
PACIENTE-154 128	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-155 132	Q/R	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-156 107	Q/R	L/M	S/S	A/G
PACIENTE-157 175	Q/R	L/L	C/S	G/G
PACIENTE-158 66	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-159 170	Q/R	L/M	S/S	A/G
PACIENTE-160 114	Q/R	L/M	S/S	G/G
PACIENTE-161 53	Q/Q	L/M	S/S	A/A

Continua

Continuação				
Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311 PON2-148
PACIENTE-162 289	Q/R	L/M	S/S	A/G
PACIENTE-163 453	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-164 30	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-165 167	Q/R	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-166 158	Q/R	L/M	C/C	A/G
PACIENTE-167 54	Q/Q	M/M	C/C	A/G
PACIENTE-168 82	Q/Q	L/M	C/S	A/A
PACIENTE-169 292	R/R	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-170 102	R/R	L/L	C/S	A/A
PACIENTE-171 230	Q/R	L/L	C/S	A/A
PACIENTE-172 230	Q/R	L/L	C/C	A/G
PACIENTE-173 157	Q/R	L/L	C/C	G/G
PACIENTE-174 59	Q/Q	L/M	C/C	G/G
PACIENTE-175 59	Q/Q	L/M	C/C	A/G
PACIENTE-176 290	Q/R	L/L	C/C	A/G
PACIENTE-177 128	Q/R	L/L	C/C	A/G
PACIENTE-178 152	Q/R	L/L	C/C	A/G
PACIENTE-179 68	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-180 107	Q/R	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-181 176	Q/R	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-182 322	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-183 68	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-184 68	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-185 164	Q/R	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-186 318	R/R	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-187 88	Q/R	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-188 111	Q/R	L/L	C/S	A/G

Continua

Continuação				
Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311 PON2-148
PACIENTE-189 258	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-190 136	R/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-191 191	R/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-192 48	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-193 84	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-194 32	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-195 127	Q/R	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-196 36	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-197 158	Q/R	L/M	C/C	G/G
PACIENTE-198 40	Q/Q	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-199 67	Q/Q	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-200 154	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-201 133	Q/R	L/L	C/C	A/G
PACIENTE-202 172	R/R	L/L	C/C	A/G
PACIENTE-203 40	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-204 47	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-205 46	Q/Q	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-206 160	Q/R	L/M	C/C	G/G
PACIENTE-207 47	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-208 45	Q/Q	L/M	C/C	A/G
PACIENTE-209 340	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-210 126	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-211 70	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-212 82	Q/Q	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-213 112	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-214 158	Q/R	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-215 45	Q/Q	L/M	S/S	A/A

Continua

Continuação				
Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311 PON2-148
PACIENTE-216 65	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-217 169	Q/Q	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-218 130	Q/R	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-219 155	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-220 63	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-221 55	Q/Q	L/M	S/S	A/G
PACIENTE-222 196	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-223 316	R/R	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-224 168	R/R	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-225 55	Q/Q	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-226 397	R/R	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-227 71	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-228 124	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-229 262	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-230 56	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-231 95	Q/Q	L/L	C/S	A/A
PACIENTE-232 127	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-233 41	Q/Q	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-234 142	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-235 125	Q/R	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-236 133	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-237 103	Q/Q	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-238 53	Q/Q	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-239 44	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-240 136	Q/R	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-241 155	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-242 125	Q/R	L/M	C/S	A/G

Continua

Continuação				
Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311 PON2-148
PACIENTE-243	339	R/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-244	152	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-245	151	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-246	65	Q/Q	L/M	C/S A/G
PACIENTE-247	162	Q/R	L/L	C/S A/G
PACIENTE-248	163	R/R	L/L	C/C G/G
PACIENTE-249	30	Q/Q	M/M	S/S A/A
PACIENTE-250	161	Q/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-251	369	R/R	L/L	C/C A/G
PACIENTE-252	60	Q/Q	M/M	S/S A/A
PACIENTE-253	111	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-254	113	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-255	261	Q/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-256	164	R/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-257	37	Q/Q	M/M	C/C A/A
PACIENTE-258	31	Q/Q	L/M	C/C A/A
PACIENTE-259	88	Q/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-260	89	Q/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-261	163	Q/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-262	329	Q/Q	L/M	C/S G/G
PACIENTE-263	40	Q/Q	L/M	C/C A/G
PACIENTE-264	226	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-265	272	R/R	L/L	C/C A/A
PACIENTE-266	150	Q/Q	M/M	C/S A/A
PACIENTE-267	46	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-268	71	Q/R	M/M	C/S G/G
PACIENTE-269	164	Q/R	L/M	S/S A/A

Continua

Continuação				
Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311 PON2-148
PACIENTE-270 382	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-271 41	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-272 60	Q/Q	L/M	C/C	A/G
PACIENTE-273 114	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-274 82	Q/R	M/M	C/C	A/G
PACIENTE-275 56	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-276 62	Q/Q	M/M	C/C	A/G
PACIENTE-277 137	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-278 380	R/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-279 167	Q/R	L/L	S/S	A/A
PACIENTE-280 122	Q/R	L/M	C/S	A/A
PACIENTE-281 52	Q/Q	L/M	C/S	A/A
PACIENTE-282 153	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-283 194	R/R	L/L	C/S	A/A
PACIENTE-284 44	Q/Q	M/M	S/S	A/A
PACIENTE-285 189	Q/R	L/L	C/C	A/A
PACIENTE-286 51	Q/Q	L/L	C/C	A/G
PACIENTE-287 307	R/R	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-288 243	R/R	L/L	C/S	A/G
PACIENTE-289 233	Q/R	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-290 111	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-291 90	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-292 277	Q/R	L/M	C/S	A/A
PACIENTE-293 280	Q/R	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-294 69	Q/Q	L/M	S/S	A/A
PACIENTE-295 78	Q/Q	L/M	C/S	A/G
PACIENTE-296 175	Q/R	L/M	C/S	A/G

Continua

Continuação				
Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311 PON2-148
PACIENTE-297	48	Q/Q	M/M	C/S A/A
PACIENTE-298	107	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-299	412	Q/R	L/M	C/S G/G
PACIENTE-300	58	Q/Q	M/M	S/S A/A
PACIENTE-301	141	Q/R	L/M	C/C A/A
PACIENTE-302	385	RQ/R	L/M	C/C A/A
PACIENTE-303	61	Q/Q	L/L	C/C A/G
PACIENTE-304	81	Q/Q	L/M	C/C A/G
PACIENTE-305	147	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-306	60	Q/Q	L/M	C/S A/A
PACIENTE-307	75	Q/Q	L/M	C/C A/G
PACIENTE-308	43	Q/Q	L/M	S/S A/A
PACIENTE-309	226	Q/R	L/M	C/C A/G
PACIENTE-310	340	Q/R	L/M	C/C A/A
PACIENTE-311	161	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-312	153	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-313	75	Q/Q	L/L	C/C A/G
PACIENTE-314	75	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-315	51	Q/Q	L/M	C/C A/G
PACIENTE-316	134	Q/R	L/M	C/C A/G
PACIENTE-317	52	Q/Q	L/M	C/S A/A
PACIENTE-318	153	Q/R	L/M	C/S A/A
PACIENTE-319	75	Q/Q	L/M	C/C A/G
PACIENTE-320	148	Q/R	L/M	C/S A/A
PACIENTE-321	60	Q/Q	L/M	S/S A/A
PACIENTE-322	472	Q/R	L/M	C/C A/G
PACIENTE-323	150	Q/R	L/M	C/C A/G

Continua

Continuação				
Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311 PON2-148
PACIENTE-324	58	Q/Q	L/M	S/S A/A
PACIENTE-325	155	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-326	114	Q/R	M/M	C/S A/A
PACIENTE-327	142	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-328	60	Q/Q	L/M	S/S A/A
PACIENTE-329	129	Q/R	L/M	C/C A/G
PACIENTE-330	284	Q/R	L/M	C/C A/G
PACIENTE-331	46	Q/Q	M/M	C/C A/A
PACIENTE-332	49	Q/Q	L/M	S/S A/A
PACIENTE-333	50	Q/Q	L/M	C/S A/G
PACIENTE-334	73	Q/Q	L/M	C/C G/G
PACIENTE-335	52	Q/Q	M/M	S/S A/A
PACIENTE-336	122	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-337	162	Q/R	L/M	S/S A/A
PACIENTE-338	221	Q/R	L/M	C/C A/G
PACIENTE-339	78	Q/Q	L/M	C/C G/G
PACIENTE-340	47	Q/Q	L/M	S/S A/A
PACIENTE-341	135	Q/R	L/L	C/C A/G
PACIENTE-342	163	R/R	L/L	S/S A/A
PACIENTE-343	143	Q/R	L/L	C/C A/G
PACIENTE-344	49	Q/Q	L/M	C/C A/G
PACIENTE-345	150	Q/R	L/L	C/C A/G
PACIENTE-346	51	Q/Q	L/M	C/C A/G
PACIENTE-347	163	R/R	L/L	C/C A/G
PACIENTE-348	65	Q/Q	L/L	S/S A/A
PACIENTE-349	45	Q/Q	M/M	S/S A/A
PACIENTE-350	93	Q/R	L/M	S/S A/A

Continua

Continuação				
Código	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311 PON2-148
PACIENTE-351	136	Q/R	L/M	S/S A/A

Atividade: atividade da paraoxonase, avaliada no soro de pacientes, contra o paraoxon; **PON1-192:** mutação PON1-192 Q/R (Q/Q: isoforma Q; Q/R: heterozigoto; R/R: isoforma R); **PON1-55:** mutação PON1-55 L/M (L/L: homozigoto Leucina/Leucina; L/M: heterozigoto Leucina/Metionina; M/M: homozigoto mutado Metionina/Metionina); **PON2-311:** mutação PON2-311; **PON2-148:** mutação PON2-148 A/G (A/A: homozigoto; A/G: heterozigoto; GG: homozigoto mutado).

Anexo H – Determinação da atividade da paraoxonase e detecção das mutações PON1-192Q/R, PON1-55L/M, PON2-311SC e PON2-148AG na população de portadores de HIV ao diagnóstico (n=32)

Código	Idade	Sexo	Raça	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311	PON2-148
PORTHIV-001	32	M	Mestiço	A/G	R/R	L/L	C/S	320
PORTHIV-002	21	M	Mestiço	A/A	Q/R	L/M	S/S	123
PORTHIV-003	24	M	Branca	A/A	Q/R	L/M	S/S	319
PORTHIV-004	23	M	Mestiço	A/G	Q/R	L/L	C/C	84
PORTHIV-005	26	M	Branca	A/A	Q/Q	M/M	S/S	56
PORTHIV-006	27	F	Mestiço	A/A	Q/R	L/M	S/S	42
PORTHIV-007	25	M	Mestiço	A/A	Q/R	L/M	S/S	235
PORTHIV-008	22	M	Branca	A/G	Q/Q	L/L	C/C	122
PORTHIV-009	19	M	Branca	G/G	Q/Q	L/M	C/C	71
PORTHIV-011	42	M	Mestiço	A/A	R/R	L/L	S/S	160
PORTHIV-013	49	F	Branca	A/A	Q/Q	L/M	S/S	63
PORTHIV-014	42	F	Branca	A/A	Q/Q	L/M	C/S	86
PORTHIV-015	42	M	Branca	A/G	Q/R	L/M	C/C	175
PORTHIV-016	21	M	Mestiço	A/A	Q/R	L/L	S/S	161
PORTHIV-017	25	M	Mestiço	A/A	R/R	M/M	S/S	79
PORTHIV-018	21	M	Mestiço	A/G	Q/Q	L/M	S/S	178
PORTHIV-019	39	F	Branca	A/G	Q/R	L/L	S/S	164
PORTHIV-021	32	F	Branca	A/G	Q/Q	M/M	S/S	72
PORTHIV-022	57	F	Branca	A/A	Q/Q	M/M	S/S	60
PORTHIV-025	37	M	Branca	A/A	Q/R	M/M	S/S	148
PORTHIV-026	35	M	Branca	A/A	Q/Q	L/L	S/S	80
PORTHIV-027	22	M	Mestiço	A/G	Q/R	L/L	C/C	135
PORTHIV-028	38	M	Branca	A/A	Q/Q	M/M	S/S	50
PORTHIV-029	25	F	Mestiço	G/G	R/R	L/L	S/S	551
PORTHIV-030	31	M	Mestiço	A/A	Q/R	L/L	S/S	113

Continua

Continuação							
Código	Idade	Sexo	Raça	Atividade	PON1-192	PON1-55	PON2-311 PON2-148
PORTHIV-031	32	M	Negra	A/A	Q/R	M/M	S/S 136
PORTHIV-032	33	M	Negra	A/G	Q/Q	L/L	S/S 78
PORTHIV-034	26	M	Branca	A/A	Q/Q	M/M	S/S 57
PORTHIV-035	19	M	Branca	A/G	Q/Q	M/M	S/S 47
PORTHIV-036	37	F	Branca	G/G	Q/R	M/M	S/S 255
PORTHIV-037	20	M	Branca	G/G	Q/R	M/M	S/S 129
PORTHIV-038	19	F	Branca	G/G	R/R	L/L	S/S 493

Atividade: atividade da paraoxonase, avaliada no soro de pacientes, contra o paraoxon; **PON1-192:** mutação PON1-192 Q/R (Q/Q: isoforma Q; Q/R: heterozigoto; R/R: isoforma R); **PON1-55:** mutação PON1-55 L/M (L/L: homozigoto Leucina/Leucina; L/M: heterozigoto Leucina/Metionina; M/M: homozigoto mutado Metionina/Metionina); **PON2-311:** mutação PON2-311; **PON2-148:** mutação PON2-148 A/G (A/A: homozigoto; A/G: heterozigoto; GG: homozigoto mutado).

Anexo I – Determinação da atividade da paraoxonase e detecção das mutações PON1-192Q/R, PON1-55L/M, PON2-311S/C e PON2-148A/G na população de doadores estudada (n=179)

Amostras	Atividade	Q 192 R	L 55 M	C 311 S	A 148 G
SAUDÁVEL – 007	67	QR	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 008	63	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 010	93	QR	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 012	25	QQ	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 014	90	RR	LM	CC	AG
SAUDÁVEL – 015	82	QR	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 016	34	QQ	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 019	64	QR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 020	55	QR	LM	SS	AG
SAUDÁVEL – 021	56	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 028	101	RR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 029	73	QQ	LL	CC	GG
SAUDÁVEL – 031	27	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 032	93	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 033	10	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 036	79	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 039	131	RR	LL	SS	AG
SAUDÁVEL – 040	71	RR	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 041	53	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 042	69	QR	LM	SS	AA

Continua

Continuação					
Amostras	Atividade	Q 192 R	L 55 M	C 311 S	A 148 G
SAUDÁVEL – 043	77	QR	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 044	28	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 045	52	QQ	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 046	38	QQ	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 047	33	QQ	MM	SS	AA
SAUDÁVEL – 048	79	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 049	26	QQ	LL	CC	GG
SAUDÁVEL – 050	42	QQ	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 051	160	RR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 052	94	RR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 053	107	RR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 055	113	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 056	114	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 058	152	RR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 060	34	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 061	94	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 062	90	QR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 064	49	RR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 065	33	QQ	MM	CS	AG
SAUDÁVEL – 067	46	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 079	50	QQ	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 080	117	RR	LM	SS	AA

Continua

Continuação					
Amostras	Atividade	Q 192 R	L 55 M	C 311 S	A 148 G
SAUDÁVEL – 082	109	QR	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 085	141	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 086	124	QR	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 108	118	QR	LM	CS	AA
SAUDÁVEL – 110	54	QQ	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 112	96	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 114	83	QQ	LL	CS	GG
SAUDÁVEL – 115	36	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 116	53	QQ	LM	CS	AA
SAUDÁVEL – 118	222	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 119	138	RR	LM	CS	AA
SAUDÁVEL – 120	223	RR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 121	55	QQ	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 122	172	QR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 123	146	QR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 124	121	QR	LM	CS	AA
SAUDÁVEL – 125	202	QQ	MM	SS	AA
SAUDÁVEL – 126	48	QQ	LM	CS	AA
SAUDÁVEL – 127	59	QQ	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 128	124	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 129	60	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 130	262	RR	LL	SS	AA

Continua

Continuação					
Amostras	Atividade	Q 192 R	L 55 M	C 311 S	A 148 G
SAUDÁVEL – 131	222	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 132	152	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 133	177	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 134	164	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 135	135	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 136	94	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 137	57	QQ	MM	CC	AA
SAUDÁVEL – 138	142	QR	LL	CC	AG
SAUDÁVEL – 139	55	QQ	LM	CC	AG
SAUDÁVEL – 140	98	QR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 141	131	QR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 142	243	QR	MM	SS	AA
SAUDÁVEL – 143	222	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 145	33	RR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 146	56	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 147	37	QQ	LM	CS	AA
SAUDÁVEL – 149	130	QR	MM	CS	AA
SAUDÁVEL – 150	137	QR	MM	CS	AG
SAUDÁVEL – 151	262	RR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 152	21	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 153	55	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 154	226	RR	LL	CS	AG

Continua

Continuação					
Amostras	Atividade	Q 192 R	L 55 M	C 311 S	A 148 G
SAUDÁVEL – 155	155	QR	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 156	175	QR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 157	277	RR	LM	CS	GG
SAUDÁVEL – 158	358	RR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 159	320	RR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 160	163	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 161	165	QR	LL	CS	GG
SAUDÁVEL – 162	153	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 163	77	QQ	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 164	130	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 165	185	RR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 166	127	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 167	287	RR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 168	96	QR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 169	328	RR	LL	CC	AG
SAUDÁVEL – 170	77	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 171	206	QR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 173	143	QR	LM	CS	AA
SAUDÁVEL – 175	64	QQ	LM	SS	AG
SAUDÁVEL – 176	76	QQ	LL	CC	AA
SAUDÁVEL – 177	230	QR	LL	CC	GG
SAUDÁVEL – 179	69	QQ	LL	CS	AA

Continua

Continuação					
Amostras	Atividade	Q 192 R	L 55 M	C 311 S	A 148 G
SAUDÁVEL – 180	79	QQ	LL	SS	AG
SAUDÁVEL – 183	139	QR	LM	CS	AA
SAUDÁVEL – 184	39	QQ	MM	SS	AG
SAUDÁVEL – 185	46	QQ	LM	CS	AA
SAUDÁVEL – 186	128	QR	LM	SS	AG
SAUDÁVEL – 187	196	QR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 188	131	QR	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 189	290	RR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 190	53	QQ	MM	SS	AA
SAUDÁVEL – 191	290	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 194	34	QQ	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 195	67	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 196	242	QR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 197	198	QR	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 199	158	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 201	67	QQ	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 202	244	RR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 204	145	RR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 205	198	QR	LM	CS	AA
SAUDÁVEL – 207	220	QR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 208	148	QR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 209	66	QQ	LM	SS	AA

Continua

Continuação					
Amostras	Atividade	Q 192 R	L 55 M	C 311 S	A 148 G
SAUDÁVEL – 210	43	QQ	MM	SS	AA
SAUDÁVEL – 211	58	QQ	MM	CS	AA
SAUDÁVEL – 215	125	QR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 216	160	QR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 218	132	QR	LM	SS	AG
SAUDÁVEL – 219	412	RR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 220	154	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 222	72	QQ	MM	SS	AA
SAUDÁVEL – 223	218	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 224	349	RR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 225	156	QR	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 226	53	QQ	MM	SS	AG
SAUDÁVEL – 227	125	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 228	275	RR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 229	173	RR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 230	47	QQ	MM	CC	AA
SAUDÁVEL – 231	373	RR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 232	107	QR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 233	48	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 234	59	QQ	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 235	99	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 236	43	QQ	LM	CS	AG

Continua

Continuação					
Amostras	Atividade	Q 192 R	L 55 M	C 311 S	A 148 G
SAUDÁVEL – 237	111	QR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 238	33	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 241	243	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 242	104	QR	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 243	44	QQ	MM	SS	AA
SAUDÁVEL – 244	200	QR	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 245	52	QQ	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 246	163	QR	LM	CS	AA
SAUDÁVEL – 247	54	QQ	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 249	98	QR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 250	165	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 251	190	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 252	101	QR	LL	CC	GG
SAUDÁVEL – 253	236	QR	LL	CS	AA
SAUDÁVEL – 255	135	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 257	66	QQ	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 258	36	QQ	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 259	125	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 261	85	QR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 262	363	RR	LL	CS	AG
SAUDÁVEL – 263	131	QR	LM	SS	AA
SAUDÁVEL – 264	161	QR	LM	SS	AA

Continua

Continuação					
Amostras	Atividade	Q 192 R	L 55 M	C 311 S	A 148 G
SAUDÁVEL – 265	59	QQ	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 266	126	RR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 267	96	QQ	LM	CS	AG
SAUDÁVEL – 270	216	RR	LL	SS	AA
SAUDÁVEL – 271	181	QR	LL	CS	AG

Atividade: atividade da paraoxonase, avaliada no soro de indivíduos saudáveis, contra o paraoxon; **PON1-192:** mutação PON1-192 Q/R (Q/Q: isoforma Q; Q/R: heterozigoto; R/R: isoforma R); **PON1-55:** mutação PON1-55 L/M (L/L: homozigoto Leucina/Leucina; L/M: heterozigoto Leucina/Metionina; M/M: homozigoto mutado Metionina/Metionina); **PON2-311:** mutação PON2-311; **PON2-148:** mutação PON2-148 A/G (A/A: homozigoto; A/G: heterozigoto; GG: homozigoto mutado).

Anexo J – Resultados individuais da determinação do TBARS em pacientes (em nmoles/ml; n=288)

Código	TBARS
PACIENTE-001	2,38
PACIENTE-002	--
PACIENTE-003	1,51
PACIENTE-004	3,78
PACIENTE-005	--
PACIENTE-006	2,08
PACIENTE-007	3,19
PACIENTE-008	2,72
PACIENTE-009	2,23
PACIENTE-010	2,07
PACIENTE-011	4,00
PACIENTE-012	2,38
PACIENTE-013	2,03
PACIENTE-014	1,68
PACIENTE-015	--
PACIENTE-016	--
PACIENTE-017	3,04
PACIENTE-018	1,10
PACIENTE-019	1,49
PACIENTE-020	4,66
PACIENTE-021	--

Continua

Continuação	
Código	TBARS
PACIENTE-022	--
PACIENTE-023	--
PACIENTE-024	--
PACIENTE-025	--
PACIENTE-026	--
PACIENTE-027	--
PACIENTE-028	4,28
PACIENTE-029	--
PACIENTE-030	--
PACIENTE-031	--
PACIENTE-032	--
PACIENTE-033	--
PACIENTE-034	--
PACIENTE-035	2,23
PACIENTE-036	2,19
PACIENTE-037	0,28
PACIENTE-038	1,63
PACIENTE-039	1,68
PACIENTE-040	1,86
PACIENTE-041	3,12
PACIENTE-042	1,51
PACIENTE-043	0,70
Continua	

Código	Continuação
	TBARS
PACIENTE-044	1,30
PACIENTE-045	2,85
PACIENTE-046	1,71
PACIENTE-047	2,00
PACIENTE-048	1,87
PACIENTE-049	1,07
PACIENTE-050	3,75
PACIENTE-051	3,37
PACIENTE-052	2,75
PACIENTE-053	9,76
PACIENTE-054	2,87
PACIENTE-055	2,06
PACIENTE-056	1,43
PACIENTE-057	3,62
PACIENTE-058	4,55
PACIENTE-059	3,74
PACIENTE-060	2,56
PACIENTE-061	1,43
PACIENTE-062	--
PACIENTE-063	--
Continua	

Código	Continuação TBARS
PACIENTE-064	--
PACIENTE-065	--
PACIENTE-066	--
PACIENTE-067	--
PACIENTE-068	--
PACIENTE-069	--
PACIENTE-070	--
PACIENTE-071	--
PACIENTE-072	--
PACIENTE-073	--
PACIENTE-074	--
PACIENTE-075	--
PACIENTE-076	--
PACIENTE-077	--
PACIENTE-078	--
PACIENTE-079	--
PACIENTE-080	--
PACIENTE-081	--
PACIENTE-082	--
PACIENTE-083	--
PACIENTE-084	--
PACIENTE-085	--
Continua	

Código	Continuação TBARS
PACIENTE-086	--
PACIENTE-087	--
PACIENTE-088	--
PACIENTE-089	--
PACIENTE-090	--
PACIENTE-091	--
PACIENTE-092	--
PACIENTE-093	--
PACIENTE-094	--
PACIENTE-095	2,66
PACIENTE-096	--
PACIENTE-097	--
PACIENTE-098	2,57
PACIENTE-099	--
PACIENTE-100	--
PACIENTE-101	--
PACIENTE-102	--
PACIENTE-103	--
PACIENTE-104	--
PACIENTE-105	2,29
PACIENTE-106	2,09
PACIENTE-107	0,42
Continua	

Código	Continuação TBARS
PACIENTE-108	0,83
PACIENTE-109	2,16
PACIENTE-110	1,95
PACIENTE-111	1,45
PACIENTE-112	2,75
PACIENTE-113	2,49
PACIENTE-114	1,96
PACIENTE-115	2,28
PACIENTE-116	2,31
PACIENTE-117	--
PACIENTE-118	3,97
PACIENTE-119	1,24
PACIENTE-120	1,39
PACIENTE-121	1,49
PACIENTE-122	1,20
PACIENTE-123	1,29
PACIENTE-125	0,96
PACIENTE-126	0,59
PACIENTE-127	--
PACIENTE-128	1,92
PACIENTE-129	--
PACIENTE-130	0,85
Continua	

Código	Continuação TBARS
PACIENTE-131	1,99
PACIENTE-132	2,27
PACIENTE-133	2,35
PACIENTE-134	1,92
PACIENTE-135	1,42
PACIENTE-136	2,95
PACIENTE-137	1,40
PACIENTE-138	2,90
PACIENTE-139	5,55
PACIENTE-140	1,83
PACIENTE-141	1,30
PACIENTE-142	1,32
PACIENTE-143	1,44
PACIENTE-144	0,86
PACIENTE-145	1,45
PACIENTE-146	1,57
PACIENTE-147	2,33
PACIENTE-148	1,10
PACIENTE-149	0,94
PACIENTE-150	1,16
PACIENTE-151	2,51
PACIENTE-152	3,96
Continua	

Código	Continuação
	TBARS
PACIENTE-153	1,57
PACIENTE-154	2,81
PACIENTE-155	1,89
PACIENTE-156	3,88
PACIENTE-157	6,28
PACIENTE-158	4,17
PACIENTE-159	1,37
PACIENTE-160	3,30
PACIENTE-161	1,40
PACIENTE-162	2,67
PACIENTE-163	1,03
PACIENTE-164	1,24
PACIENTE-165	1,98
PACIENTE-166	0,94
PACIENTE-167	2,81
PACIENTE-168	0,50
PACIENTE-169	2,22
PACIENTE-170	1,45
PACIENTE-171	1,31
PACIENTE-172	1,00
PACIENTE-173	1,77
PACIENTE-174	0,47
Continua	

Código	Continuação
	TBARS
PACIENTE-175	2,03
PACIENTE-176	2,64
PACIENTE-177	1,20
PACIENTE-178	3,15
PACIENTE-179	0,34
PACIENTE-180	2,29
PACIENTE-181	1,74
PACIENTE-182	1,10
PACIENTE-183	1,73
PACIENTE-184	1,94
PACIENTE-185	2,78
PACIENTE-186	1,73
PACIENTE-187	0,64
PACIENTE-188	4,28
PACIENTE-189	3,25
PACIENTE-190	5,25
PACIENTE-191	2,46
PACIENTE-192	3,28
PACIENTE-193	1,00
PACIENTE-194	3,48
PACIENTE-195	1,45
PACIENTE-196	1,07
Continua	

Código	Continuação
	TBARS
PACIENTE-197	3,76
PACIENTE-198	5,78
PACIENTE-199	1,14
PACIENTE-200	1,39
PACIENTE-201	1,08
PACIENTE-202	2,71
PACIENTE-203	2,02
PACIENTE-204	3,79
PACIENTE-205	3,49
PACIENTE-206	3,13
PACIENTE-207	3,26
PACIENTE-208	0,54
PACIENTE-209	2,00
PACIENTE-210	2,47
PACIENTE-211	2,57
PACIENTE-212	2,92
PACIENTE-213	2,50
PACIENTE-214	0,60
PACIENTE-215	2,47
PACIENTE-216	0,70
PACIENTE-217	1,79
PACIENTE-218	2,11
Continua	

Código	Continuação TBARS
PACIENTE-219	3,01
PACIENTE-220	2,33
PACIENTE-221	1,13
PACIENTE-222	2,61
PACIENTE-223	3,55
PACIENTE-224	1,96
PACIENTE-225	2,15
PACIENTE-226	2,15
PACIENTE-227	1,93
PACIENTE-228	1,77
PACIENTE-229	1,63
PACIENTE-230	2,41
PACIENTE-231	2,20
PACIENTE-232	1,70
PACIENTE-233	3,66
PACIENTE-234	3,02
PACIENTE-235	2,92
PACIENTE-236	2,99
PACIENTE-237	2,73
PACIENTE-238	2,55
PACIENTE-239	2,50
PACIENTE-240	2,18
Continua	

Código	Continuação TBARS
PACIENTE-241	4,37
PACIENTE-242	2,23
PACIENTE-243	2,00
PACIENTE-244	2,69
PACIENTE-245	2,06
PACIENTE-246	1,29
PACIENTE-247	2,64
PACIENTE-248	2,12
PACIENTE-249	0,67
PACIENTE-250	1,42
PACIENTE-251	1,11
PACIENTE-252	2,77
PACIENTE-253	0,99
PACIENTE-254	0,95
PACIENTE-255	3,14
PACIENTE-256	2,01
PACIENTE-257	1,29
PACIENTE-258	0,43
PACIENTE-259	1,60
PACIENTE-260	1,64
PACIENTE-261	1,20
PACIENTE-262	4,25
Continua	

Código	Continuação TBARS
PACIENTE-263	2,41
PACIENTE-264	2,60
PACIENTE-265	2,83
PACIENTE-266	1,18
PACIENTE-267	2,34
PACIENTE-268	1,08
PACIENTE-269	1,09
PACIENTE-270	2,50
PACIENTE-271	0,72
PACIENTE-272	0,41
PACIENTE-273	0,85
PACIENTE-274	1,45
PACIENTE-275	2,23
PACIENTE-276	1,20
PACIENTE-277	2,02
PACIENTE-278	1,58
PACIENTE-279	1,24
PACIENTE-280	3,47
PACIENTE-281	2,61
PACIENTE-282	1,54
PACIENTE-283	2,43
PACIENTE-284	1,05
Continua	

Código	Continuação TBARS
PACIENTE-285	3,80
PACIENTE-286	1,10
PACIENTE-287	2,26
PACIENTE-288	5,09
PACIENTE-289	2,60
PACIENTE-290	0,50
PACIENTE-291	28,53
PACIENTE-292	1,99
PACIENTE-293	1,20
PACIENTE-294	1,65
PACIENTE-295	0,79
PACIENTE-296	0,61
PACIENTE-297	0,92
PACIENTE-298	2,98
PACIENTE-299	2,08
PACIENTE-300	1,66
PACIENTE-301	0,87
PACIENTE-302	0,73
PACIENTE-303	3,02
PACIENTE-304	0,64
PACIENTE-305	1,49
PACIENTE-306	1,73
Continua	

Código	Continuação TBARS
PACIENTE-307	0,52
PACIENTE-308	1,77
PACIENTE-309	3,14
PACIENTE-310	0,15
PACIENTE-311	2,35
PACIENTE-312	3,90
PACIENTE-313	3,49
PACIENTE-314	3,56
PACIENTE-315	3,90
PACIENTE-316	1,13
PACIENTE-317	2,87
PACIENTE-318	0,33
PACIENTE-319	2,74
PACIENTE-320	3,61
PACIENTE-321	3,87
PACIENTE-322	1,97
PACIENTE-323	4,10
PACIENTE-324	1,44
PACIENTE-325	0,85
PACIENTE-326	0,84
PACIENTE-327	1,18
PACIENTE-328	1,17
Continua	

Código	Continuação TBARS
PACIENTE-329	1,03
PACIENTE-330	3,21
PACIENTE-331	3,42
PACIENTE-332	3,71
PACIENTE-333	6,34
PACIENTE-334	1,34
PACIENTE-335	--
PACIENTE-336	3,44
PACIENTE-337	6,18
PACIENTE-338	1,20
PACIENTE-339	2,96
PACIENTE-340	2,24
PACIENTE-341	3,23
PACIENTE-342	2,94
PACIENTE-343	1,05
PACIENTE-344	2,91
PACIENTE-345	4,70
PACIENTE-346	4,03
PACIENTE-347	2,94
PACIENTE-348	2,34
PACIENTE-349	3,32
PACIENTE-350	2,90
Continua	

Continuação	
Código	TBARS
PACIENTE-351	1,88

Anexo K – Resultados individuais da determinação do TBARS nos portadores de HIV ao diagnóstico (em nmoles/ml; n=25)

Código	TBARS
PORT HIV-001	3,26
PORT HIV-002	2,68
PORT HIV-003	2,70
PORT HIV-004	3,15
PORT HIV-005	2,90
PORT HIV-006	--
PORT HIV-007	--
PORT HIV-008	1,96
PORT HIV-009	2,19
PORT HIV-011	--
PORT HIV-013	--
PORT HIV-014	5,24
PORT HIV-015	4,15
PORT HIV-016	1,91
PORT HIV-017	1,75
PORT HIV-018	2,04
PORT HIV-019	1,63
PORT HIV-021	--
PORT HIV-022	2,04
PORT HIV-025	--
PORT HIV-026	2,69

Continua

Código	Continuação
	TBARS
PORT HIV-027	1,30
PORT HIV-028	1,18
PORT HIV-029	1,63
PORT HIV-030	1,37
PORT HIV-031	2,09
PORT HIV-032	1,26
PORT HIV-034	--
PORT HIV-035	0,93
PORT HIV-036	1,55
PORT HIV-037	1,07
PORT HIV-038	2,33

Anexo L – Distribuição das frequências alélicas de PON1-192R e PON1-192Q em algumas populações

Continente	Populações	*192Q	*192R	n	Referências
África	Bênin	0,388	0,612	98	Scacchi <i>et al.</i> , 2003
	Etíopes	0,592	0,408	169	Scacchi <i>et al.</i> , 2003
América	Índios Oji-Cree (CAN)	0,233	0,766	344	Hegele <i>et al.</i> , 1998
	Índios Cayapa (EQU)	0,211	0,789	83	Scacchi <i>et al.</i> , 2003
	Ameríndios (BRA)	0,270	0,730	259	Dos Santos <i>et al.</i> , 2005
	Brasileiros	0,680	0,320	--	Oliveira <i>et al.</i> , 2004
	EUA	0,715	0,285	679	Chen <i>et al.</i> , 2002; Brophy <i>et al.</i> , 2001
	Peruanos	0,539	0,461	89	Cataño <i>et al.</i> , 2006
	Costarriquenhos	0,757	0,243	518	Sen-Banerjee <i>et al.</i> , 2000
	Mexicanos	0,510	0,490	214	Rojas-Gracia <i>et al.</i> , 2005
	Mexicanos (<i>mestizos</i>)	0,522	0,478	182	Gamboa <i>et al.</i> , 2006
	Chilenos (norte de Santiago)	0,569	0,431	195	Acuña <i>et al.</i> , 2004
	Chilenos (leste de Santiago)	0,663	0,337	129	Acuña <i>et al.</i> , 2004
	Hispânicos (org Caribe)	0,597	0,403	127	Chen <i>et al.</i> , 2002
	Euro-brasileiros	0,693	0,307	101	Allebrandt <i>et al.</i> , 2002
	Afro-brasileiros	0,471	0,592	70	Allebrandt <i>et al.</i> , 2002
	Caucaso-americanos	0,730	0,270	82	Chen <i>et al.</i> , 2003
	Afro-americanos	0,378	0,622	86	Chen <i>et al.</i> , 2002
Ásia	Japoneses	0,354	0,646	889	Suehiro <i>et al.</i> , 2000; Imai <i>et al.</i> , 2000
	Chineses	0,368	0,632	367	Padungtod <i>et al.</i> , 1999; Ko <i>et al.</i> , 1998
	Tailandeses	0,710	0,290	202	Phuntuwate <i>et al.</i> , 2005
	Indianos (Nova Déli)	0,670	0,330	165	Sanguera <i>et al.</i> , 1998
	Indianos	0,723	0,276	269	Pati and Pati, 1998;
Europa	Franceses	0,717	0,283	796	Ruiz <i>et al.</i> , 1995; Herrmann <i>et al.</i> , 1996
	Ingleses	0,710	0,290	282	Mackness <i>et al.</i> , 2001
	Espanhóis	0,700	0,300	141	Hernandez <i>et al.</i> , 2003
	Irlandeses	0,712	0,288	170	Herrmann <i>et al.</i> , 1996

Continua

Continuação

Continente	Populações	*192Q	*192R	n	Referências
	Alemães	0,718	0,282	2784	Gardamm <i>et al.</i> , 2000
	Holandeses	0,691	0,309	815	Heijmans <i>et al.</i> , 2000; Leus <i>et al.</i> , 2000
	Finlandeses	0,737	0,263	169	Antikainen <i>et al.</i> , 1996
	Italianos	0,678	0,313	179	Scacchi <i>et al.</i> , 2003
	Italianos (Sardenha)	0,752	0,248	161	Scacchi <i>et al.</i> , 2003
	Turcos	0,690	0,310	381	Aynacioglu <i>et al.</i> , 1999

Adaptado de Scacchi *et al.*, 2003

Anexo M – Distribuição das frequências alélicas de PON1-55L e PON1-55M em algumas populações

Continen te	Populações	*55L	*55M	n	Referências
Oceania	Cáucaso – australianos	0,6*	-	-	Brophy <i>et al.</i> , 2002*
América	Ameríndios (BRA)	0,970	0,030	259	Dos Santos <i>et al.</i> , 2005
	Brasileiros	0,670	0,330	--	Oliveira <i>et al.</i> , 2004
	Euro-brasileiros	0,610	0,390	101	Allebrandt <i>et al.</i> , 2002
	Afro-brasileiros	0,714	0,286	70	Allebrandt <i>et al.</i> , 2002
	Mexicanos	0,840	0,160	214	Rojas-Gracia <i>et al.</i> , 2005
Ásia	Tailandeses	0,950	0,050	202	Phuntuwate <i>et al.</i> , 2005
	Chineses	0,96*	-	-	Brophy <i>et al.</i> , 2002*
	Japoneses	0,91-0,94*	-	-	Brophy <i>et al.</i> , 2002*
Europa	Turcos	0,545	0,217	381	Aynacioglu <i>et al.</i> , 1999
	Caucasianos	0,57-0,64*	-	-	Brophy <i>et al.</i> , 2002*

* Adaptado de Brophy *et al.*, 2001.

8. Referências

Acuña M, Eaton L, Cifuentes L. Genetic variants of the paraoxonases (PON1 and PON2) in the Chilean population. *Hum Biol.* 2004;76(2):299-305.

Agachan B, Yilmaz H, Karaali Z, Isbir T. Paraoxonase 55 and 192 polymorphism and its relationship to serum paraoxonase activity and serum lipids in Turkish patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct.* 2004 May-Jun;22(3):163-8.

Aiello RJ, Brees D, Bourassa PA, Royer L, Lindsey S, Coskran T, Haghpasand M, Francone O. Increased atherosclerosis in hyperlipidemic mice with inactivation of ABCA1 in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22:630-37.

Aldridge WN. Serum esterases 1. Two types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination. *Biochem J.* 1953;53:110-7.

Allard JP, Aghdassi E, Chau J, Tam C, Kovacs CM, Salit IE, Walmsley SL. Effects of vitamin E and C supplementation on oxidative stress and viral load in HIV-infected subjects. *AIDS.* 1998;12(13):1653-9.

Allebrandt, K.V.; Souza, R.L.R.; Chautard-Freire-Maia, E.A. Variability of the paraoxonase gene (PON1) in Euro- and Afro-brazilians. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2002;180:151-6.

Alonso-Villaverde C, Segues T, Coll-Crespo B, Perez-Bernalte R, Rabassa A, Gomila M, Parra S, Gozalez-Esteban MA, Jimenez-Exposito MJ, Masana L. High-density lipoprotein concentrations relate to the clinical course of HIV viral load in patients undergoing antiretroviral therapy. *AIDS*. 2003;17(8):1173-8.

Andrade Júnior DR, Souza RB, Santos AS, Andrade DR. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares/ Oxygen free radicals and pulmonary disease. *J Bras Pneumol*. 2005; 31(1): 60-8.

Ansell BJ, Watson KE, Fogelman AM, Navab M, Fonarow GC. High-density lipoprotein function recent advances. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(10):1792-8.

Assmann G, Nofer JR. Atheroprotective effects of High-Density Lipoproteins. *Annu Rev Med*. 2003;54:321-41.

Aubo C, Senti M, Marrugat J, Tomas M, Vila J, Sala J, Masia R. Risk of myocardial infarction associated with Gln/Arg 192 polymorphism in the human paraoxonase gene and diabetes mellitus. *Eur Heart Journal*. 2000;21:33-8.

Aviram M, Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Newton R, Rosenblat M, Erogul J, Hsu C, Dunlop C, La Du BN. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its arylesterase/paraoxonase activities: selective active of human paraoxonase alloenzymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;10:1617-24.

Aviram M, Kaplan M, Rosenblat M, Fuhrman B. Dietary antioxidants and paraoxonases against LDL oxidation and atherosclerosis development. *Handb Exp Pharmacol*. 2005a;170:263-300.

Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its function: a possible role for paraoxonase. *The Journal of Clinical Investigation*. 1998;101:1581-90.

Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radic Biol Med*. 2004;37(9):1304-16.

Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases and cardiovascular diseases: pharmacological and nutritional influences. *Curr Opin Lipidol*. 2005b;16(4):393-9.

Aviram M. Does paraoxonase play role in susceptibility to cardiovascular disease? *Molecular Medicine Today*. 1999;3:381-6.

Aynacioglu AS, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, Nacak M, Tapanyigit EE, Roots I. Paraoxonase 1 mutations in a turkish population. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1999;157:174-7.

Bassam BJ, Caetano-Annoles G, Gresshof PM. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal Biochem*. 1991;196:80-3.

Bergmeier C, Siekmeier R, Gross W. Distribution spectrum of paraoxonase

activity in HDL fractions. *Clin Chem*. 2004;50(12):2309-15.

Bilheimer DW. The lipoprotein receptor concept. *Drugs*. 1988;36(3):55-62.

Brophy VH, Jarvik GP, Richter RJ, Rozek LS, Schellenberg GD, Furlong CE. Analysis of paraoxonase (PON1) L55M status requires both genotype and phenotype. *Pharmacogenetics*. 2000;10(5):453-60.

Brophy VH, Jampsa RL, Clendenning JB, McKinstry LA, Jarvik GP, Furlong CE. Effects of 5' Regulatory-Region Polymorphisms on Paraoxonase-Gene (PON1) Expression. *Am J Hum Genet*. 2001; 68(6):1428-6.

Brown AJ, Jessup W. Oxysterols and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 1999;142(1):1-28.

Brown MS, Goldstein JL. Scavenging for receptors. *Nature*. 1990; 343:508-9.

Brown MS; Kovanen PT; Goldstein JL. Regulation of plasma cholesterol by lipoproteins receptors. *Science*. 1981; 212:628-35.

Campo S, Sardo AM, Campo GM, Avenoso A, Castaldo M, D'ascola A, Giunta E, Calatroni A, Saitta A. Identification of paraoxonase 3 gene (PON3) missense mutations in a population of southern Italy. *Mutation Research*. 2004;546:75-80.

Cao H, Girard-Globa A, Serusclat A, Bernard S, Bondon P, Picard S, Berthezene F, Moulin P. Lack of association between carotida intima-media thickness and paraoxonase gene polymorphisms in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 1998;138:361-6.

Carr A, Ory D. Does HIV cause cardiovascular disease? *PLoS Med*. 2006;3(11):e496.

Catano HC, Cueva JL, Cardenas AM, Izaguirre V, Zavaleta AI, Carranza E, Hernandez AF. Distribution of paraoxonase-1 gene polymorphisms and enzyme activity in a Peruvian population. *Environ Mol Mutagen*. 2006; 47(9):699-6.

Champe PC, Harvey RA. *Bioquímica Ilustrada*, Ed. Artes Médicas, Porto Alegre (RS), Cap. 20, p.219, 1996.

Chan PC, Wong BYL, Cole DEC. Ethnic differences in allele frequencies at polymorphic sites of the paraoxonase genes, PON1 and PON2. *Clinical Biochemistry*. 2000;33:226.

Charlton-Menys V, Liu Y, Durrington PN. Semiautomated method for determination of serum paraoxonase activity using paraoxon as substrate. *Clin Chem*. 2006;52(3):453-7.

Cole TB, Li WF, Richter RJ, Furlong CE, Costa LG. Inhibition of paraoxonase (PON1) by heavy metals. *Toxicol Sci*. 2002;66(1):312.

Constans J, Pellegrin JL, Peuchant E, Dumon MF, Pellegrin I, Sergeant C, Simonoff M, Brossard G, Barbeau P, Fleury H, et al.. Plasma lipids in HIV-infected patients: a prospective study in 95 patients. *Eur J Clin Invest*. 1994;24(6):416-20.

Costa LG, Vitalone A, Cole TB, Furlong CE. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochem Pharmacol*. 2005;69:541-50.

Crookston KP, Henderson R, Chandler WL. False negative factor V Leiden assay following allogeneic stem cell transplant. *Br J Haematol.* 1998;100(3):600-2.

Dammerman M, Sandkuijl LA, Halaas JL, Chung W, Breslow JL. An apolipoprotein CIII haplotype protective against hypertriglyceridemia is specified by promoter and 3' untranslated region polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90(10):4562-6.

Das UN. Essential fatty acids and acquired immunodeficiency syndrome. *Med Sci Monit, Med Sci Monit.* 2005;11(6):RA206-211.

Debord J, Bollinger JC, Merle L, Dantoine T. Inhibition of human serum arylesterase by metal chlorides. *J Inorg Biochem.* 2003;94:1-4.

Diczfalusy U. Analysis of cholesterol oxidation products in biological samples. *J AOAC Int.* 2004;87(2):467-73.

dos Santos NPC, Ribeiro-dos-Santos AKC, Santos EB. Frequency of the Q192R and L55M polymorphisms of the human serum paraoxonase gene

(PON1) in ten Amazonian Amerindian tribes. *Genet mol biol.* 2005; 28(1):36-9.

Draganov DI, Stetson PL, Watson CE, Billecke SS, La Du BN. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high-density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. *J Biol Chem.* 2000;275(43):33435-42.

Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, Osawa Y, Sunahara R, La Du BN. Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J Lipid Res.* 2005;46(6):1239-47.

Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:473-80.

Eck HP, Gmunder H, Hartmann M, Petzoldt D, Daniel V, Droge W. Low concentrations of acid-soluble thiol (cysteine) in the blood plasma of HIV-1-infected patients. *Biol Chem Hoppe Seyler.* 1989;370(2):101-8.

Elbim C, Pillet S, Prevost MH, Preira A, Girard PM, Rogine N, Matusani H,

Hakim J, Israel N, Gougerot-Pocidalo MA. Redox and activation status of monocytes from human immunodeficiency virus-infected patients: relationship with viral load. *J Virol*. 1999;73(6):4561-6.

Esparragon FR, trujillo YH, Reyes AM, Ortega EH, Medina A, Perez JCR. Concerning the significance of Paraoxonase-1 and SR-B1 genes in atherosclerosis. *Ver Esp Cardiol*. 2006;59(2):154-64.

Esterbauer H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *Am J Clin Nutr*. 1993;57(5):779S-785S.

Fauvel J, Bonnet E, Ruidavets JB, Ferrieres J, Toffoletti A, Massip P, Chap H, Perret B. An interaction between apo C-III variants and protease inhibitors contributes to high triglyceride/low HDL levels in treated HIV patients. *AIDS*. 2001;15(18):2397-406.

Fellay J, Boubaker K, Ledergerber B, Bernasconi E, Furrer H, Battegay M, Hirschel B, Vernazza P, Francioli P, Greub G, Flepp M, Telenti A; Swiss HIV Cohort Study. Prevalence of adverse events associated with potent antiretroviral treatment: Swiss HIV Cohort Study. *Lancet*. 2001;358(9290):1322-7.

Fellay J, Marzolini C, Meaden ER, Back DJ, Buclin T, Chave JP, Decosterd LA, Furrer H, Opravil M, Pantaleo G, Retelska D, Ruiz L, Schinkel AH, Vernazza P, Eap CB, Telenti A; Swiss HIV Cohort Study. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet*. 2002;359(9300):30-6.

Friis-Moller N, Sabin CA, Weber R, d'Arminio Monforte A, El-Sadr WM, Reiss P, Thiebaut R, Morfeldt L, De Wit S, Pradier C, Calvo G, Law MG, Kirk O, Phillips AN, Lundgren JD; Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (DAD) Study Group. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2003;349(21):1993-2003.

Fuhrman B, Volkova N, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) is present in postprandial chylomicrons. *Atherosclerosis*. 2005;180(1):55-61.

Gaidukov L, Rosenblat M, Aviram M, Tawfik DS. The 192R/Q polymorphs of serum paraoxonase PON1 differ in HDL binding, lipolactonase stimulation, and cholesterol efflux. *J Lipid Res*. 2006;47(11):2492-502.

Gaidukov L., Tawfik DS. High affinity, stability, and lactonase activity of serum paraoxonase PON1 anchored on HDL with apoA-I. *Biochemistry*. 2005;44:11843-54.

Gamboa R, Zamora J, Rodríguez-Pérez JM, Fragoso JM, Cardoso G, Posadas-Romero C, Vargas-Alarcón G. Distribution of paraoxonase PON1 gene polymorphisms in Mexican populations. Its role in the lipid profile. *Exp Mol Pathol*. 2006; 80:85-0.

Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanche H, Passa P, Froguel P, Ruiz J. Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. *J Clin Invest*. 1997;99(1):62-6.

Gil L, Martinez G, Gonzalez I, Tarinas A, Alvarez A, Giuliani A, Molina R, Tapanes R, Perez J, Leon OS. Contribution to characterization of oxidative stress in HIV/AIDS patients. *Pharmacol Res*. 2003;47(3):217-24.

Goldstein JL, Anderson RG, Brown MS. Coated pits, coated vesicles and receptor-mediated endocytosis. *Nature*. 1979; 279:679-85.

Gonzalvo MC, Hernandez GF, Villanueva E, Pla, A. Inhibition of paraoxonase activity in human liver microsomes by exposure to EDTA, metals and mercurials. *Chem Biol Interact.* 1997;105:169-79.

Grinspoon S, Carr A. Cardiovascular risk and body-fat abnormalities in HIV-infected adults. *N Engl J Med.* 2005;352(1):48-62.

Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, Shigenaga J, Jensen P, Feingold KR. Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance, and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;74(5):1045-52.

Haas DW, Wilkinson GR, Kuritzkes DR, Richman DD, Nicotera J, Mahon LF, Sutcliffe C, Siminski S, Andersen J, Coughlin K, Clayton EW, Haines J, Marshak A, Saag M, Lawrence J, Gustavson J, Anne Bennett J, Christensen R, Matula MA, Wood AJ; Adult AIDS Clinical Trials Group. A multiinvestigator/institutional DNA bank for AIDS-related human genetic studies: AACTG Protocol A5128. *HIV Clin Trials.* 2003;4(5):287-300.

Haliwell B and Gutteridge JMC. Mechanisms of damage to cellular targets by oxidative stress: lipid peroxidation. In: Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford Science Publications, New York (NY), Third edition 1999, p. 284-295.

Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, Brumshtein B, Khersonsky O, Meged R, Dvir H, Ravelli RB, McCarthy A, Toker L, Silman I, Sussman JL, Tawfik DS. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat Struct Mol Biol.* 2004;11(5):412-9.

Hayaishi O, Katagiri M, Rothberg S, Mechanism of the pyrocatechase reaction. *J Am Chem Soc.* 1955; 77: 5450-51.

Hegele RA, Connelly PW, Scherer SW, Hanley AJ, Harris SB, Tsui LC, Zinman B. Paraoxonase-2 gene (PON2) G148 variant associated with elevated fasting plasma glucose in noninsulin-dependent Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(10):3373-7.

Hernandez AF, Mackness B, Rodrigo L, Lopez O, Pla A, Gil F, Durrington PN, Pena G, Parron T, Serrano JL, Mackness MI. Paraoxonase activity and genetic polymorphisms in greenhouse workers with long term pesticide exposure. *Hum Exp Toxicol.* 2003;22:565-74.

<http://www.aids.gov.br>

<http://www.cdc.gov> (1993 Revised Classification System for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults)

Hui DY. Effects of HIV protease inhibitor therapy on lipid metabolism. *Prog Lipid Res.* 2003;42(2):81-92.

Jaworowski A, Crowe SM. Does HIV cause depletion of CD4⁺ T cells in vivo by the induction of apoptosis? *Immunol Cell Biol.* 1999;77(1):90-8.

Johnson MA, Gathe JC Jr, Podzamczar D, Molina JM, Naylor CT, Chiu YL, King MS, Podsadecki TJ, Hanna GJ, Brun SC. A once-daily lopinavir/ritonavir-based regimen provides noninferior antiviral activity compared with a twice-daily regimen. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2006;43(2):153-60.

Khersonsky O, Tawfik DS. Structure-reactivity studies of serum paraoxonase PON1 suggest that its native activity is lactonase. *Biochemistry.* 2005;44(16):6371-82.

Khersonsky O, Tawfik DS. The histidine 115-histidine 134 dyad mediates the lactonase activity of mammalian serum paraoxonases. *J. Biol. Chem.* 2006; 281: 7649–56.

Kuhel D, Woollett L, Fichtenbaum C, et al. HIV protease inhibitor-induced hyperlipidemia and lipodystrophy is mediated through regulation of sterol responsive element binding protein (SREBP) responsive genes. *Circulation.* 2000;102:360.

La Du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson RC, Standiford TJ. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Interact.* 1999;119(120):379-88.

La Du BN. Is Paraoxonase-3 another HDL-associated protein protective against atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:467-8.

Lai CQ, Parnell LD, Ordovas JM. The APOA1/C3/A4/A5 gene cluster, lipid metabolism and cardiovascular disease risk. *Curr Opin Lipidol.* 2005;16(2):153-66.

Leus FR, Zwart M, Kastelein JJ, Voorbij HA. PON2 gene variants are associated with clinical manifestations of cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia patients. *Atherosclerosis*. 2001;154(3):641-9.

Li HL, Liu DP, Liang CC. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. *J Mol Med*. 2003;81(12):766-79.

Li WW, Dammerman MM, Smith JD, Metzger S, Breslow JL, Leff T. Common genetic variation in the promoter of the human apo CIII gene abolishes regulation by insulin and may contribute to hypertriglyceridemia. *J Clin Invest*. 1995;96(6):2601-5.

Libman H and Witzburg RA. *Infecção pelo HIV – Um manual clínico*. MEDSI Editora Médica e Científica Ltda., Rio de Janeiro (RJ), 2ª edição 1995, p.3-6.

Lima ES, Couto RD. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. *J. Bras. Patol. Med. Lab*. 2006; 42(3):169-78.

Lu H, Zhu J, Zang Y, Ze Y, Qin J. Cloning, purification, and refolding of human paraoxonase-3 expressed in *Escherichia coli* and its characterization. *Protein Expr Purif*. 2006;46(1):92-9.

Mackness B, Davies GK, Turkie W, Lee E, Roberts DH, Hill E, Roberts C, Durrington PN, Mackness MI. Paraoxonase status in coronary heart disease: are activity and concentration more important than genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(9):1451-7.

Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, Mackness M. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the Caerphilly Prospective Study. *Circulation.* 2003;107(22):2775-9.

Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol.* 1998;31(3):329-36.

Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Polymorphisms of paraoxonase genes and low-density lipoprotein lipid peroxidation. *Lancet.* 1999;353(9151):468-9.

Mackness B, Mackness MI, Durrington PN, Arrol S, Evans AE, McMaster D, Ferrieres J, Ruidavets JB, Williams NR, Howard AN. Paraoxonase activity in two healthy populations with differing rates of coronary heart disease. *Eur J*

Clin Invest. 2000;30(1):4-10.

Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis.* 1993;104(1-2):129-35.

Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett.* 1991b;286(1-2):152-4.

Mackness MI, Durrington PN, Mackness B. The role of paraoxonase 1 activity in cardiovascular disease: potential for therapeutic intervention. *Am J Cardiovasc Drugs.* 2004;4(4):211-7.

Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M, Durrington PN. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis.* 1991a;86:193-9.

Malan N, Krantz E, David N, Kastango K, Frederick D. Efficacy and safety of atazanavir-based therapy in retroviral naive HIV-1 infected subjects, both

with and without ritonavir: 48-week results from AI424-089. *13th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections*. 2006; Denver, Colorado, EUA.

Malavazi I, Abrao EP, Mikawa AY, Landgraf VO, da Costa PI. Abnormalities in apolipoprotein and lipid levels in an HIV-infected Brazilian population under different treatment profiles: the relevance of apolipoprotein E genotypes and immunological status. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42(5):525-32.

Mallon PW. Antiretroviral therapy and dyslipidaemia: unlocking the code. *PLoS Med*. 2006;3(3):e85.

Manfredi R, Chiodo F. Disorders of lipid metabolism in patients with HIV disease treated with antiretroviral agents: frequency, relationship with administered drugs, and role of hypolipidaemic therapy with bezafibrate. *J Infect*. 2001;42(3):181-8.

Mason HS, Fowlks WL, Peterson E. Oxygen transfer and electron transport by the phenolase complex. *J Am Chem Soc*. 1955; 77:2914-15.

Mathers J, Fraser JA, McMahon M, Saunders RD, Hayes JD, McLellan LI. Antioxidant and cytoprotective responses to redox stress. *Biochem Soc Symp.* 2004;(71):157-76.

Mercie P, Tchamgoue S, Thiebaut R, Viallard J, Faure I I, Dancourt V V, Marimoutou C, Dabis F, Rispal P, Darmon Y, Leng B, Pellegrin J.. Atherogen lipid profile in HIV-1-infected patients with lipodystrophy syndrome. *European Journal of Internal Medicine Eur J Intern Med.* 2000;11(5):257-63.

Miller AS, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Research.* 1998;16:1215.

Mochizuki H, Scherer SW, Xi T, Nickle DC, Majer M, Huizenga JJ, Tsui LC, Prochazka M. Human PON2 gene at 7q21.3: cloning, multiple mRNA forms, and missense polymorphisms in the coding sequence. *Gene.* 1998;213:149-57.

Monier PL, Wilcox R. Metabolic complications associated with the use of highly active antiretroviral therapy in HIV-1-infected adults. *Am J Med Sci.*

2004;328(1):48-56.

Motti, C; Dessi, M; Gnasso, A; Irace, C; Indigeno, P; Angelucci, CB; Bernardini, S; Fucci, G; Federici, G; Cortese, C. A multiplex PCR-based assay for the detection of paraxonase gene cluster polymorphisms. *Atherosclerosis*. 2001;158:35-40

Mujawar Z, Rose H, Morrow MP, Pushkarsky T, Dubrovsky L, Mukhamedova N, Fu Y, Dart A, Orenstein JM, Bobryshev YV, Bukrinsky M, Sviridov D. Human immunodeficiency virus impairs reverse cholesterol transport from macrophages. *PloS Biol*. 2006;4(11):365.

Muller F, Svardal AM, Aukrust P, Berge RK, Ueland PM, Froland SS. Elevated plasma concentration of reduced homocysteine in patients with human immunodeficiency virus infection. *Am J Clin Nutr*. 1996;63(2):242-8.

Naito, HK. Cholesterol. In: Kaplan, LA; Pesce AJ. *Clinical Chemistry: Theory, analysis and correlation* (2nd edition), Ed. Mosby, St Louis, Missouri, Cap. XL, p.978, 1989.

Nakamura H, Masutani H, Yodoi J. Redox imbalance and its control in HIV

infection. *Antioxid Redox Signal*. 2002;4(3):455-64.

Ngondi JL, Oben L, Musoro FD, Etame SLH, Mbanya D. The effect of different combination therapies on oxidative stress markers in HIV infected patients in cameroon. *AIDS Research and Therapy*. 2006;3:19.

Nguyen SD, Sok DE. Beneficial effect of oleolytated lipids on paraoxonase 1: protection against oxidative inactivation and stabilization. *Biochem J*. 2003;375:275-85.

Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem*. 1997;43(7):1209-14.

Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;338(1):668-76.

Nishimura T, Inoue T, Shibata N, Sekine A, Takabe W, Noguchi N, Arai H. Inhibition of cholesterol biosynthesis by 25-hydroxycholesterol is independent of OSBP. *Genes Cells*. 2005;10(8):793-801.

Nofer JR, Kehrel B, Fobker M, Levkau B, Assmann G, von Eckardstein A. HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*. 2002;161(1):1-16.

Noor MA, Flint OP, Parker RA, Maa JF, Witek J. Evaluation of insulin sensitivity in healthy volunteers treated with low-dose ritonavir combined with atazanavir (ATV/RTV) or lopinavir (LPV/RTV): A prospective, randomized study using hyperinsulinemic, euglycemic clamp and oral glucose tolerance testing. 7th International Workshop on Adverse Events and Lipodystrophy in HIV. 2005;Dublin, Ireland.

Noto, H.; Hashimoto, Y.; Satoh, H.; Hara, M.; Iso-o, N.; Togo, M.; Kimura, S.; Tsukamoto, K. Exclusive association of paraoxonase 1 with high-density lipoprotein particles in apolipoprotein A-I deficiency. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2001;289:395-401.

Ohkawa H; Nobuko O; Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*. 1979; 95:351-58.

Oliveira, S. A.; Mansur, A. P.; Ribeiro, C. C.; Ramires, J. A. F.; Annichino-Bizzacchi, J. M. PON 1 M/L55 mutation protects high-risk patients against

coronary artery disease. *International Journal of Cardiology*. 2004;94:73-7.

Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, Aschman DJ, Holmberg SD. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*. 1998;338(13):853-60.

Papadopolus-Eleopolus, E.; Hedland-Thomas, B.; Causer, D. Changes in thiols and glutamate as consequence of simian immunodeficiency virus infection. *Lancet*. 1991;338(8773):1013-4.

Parra S, Alonso-Villaverde C, Coll B, Ferre N, Marsillach J, Aragones G, Mackness M, Mackness B, Masana L, Joven J, Camps J. Serum paraoxonase-1 activity and concentration are influenced by human immunodeficiency virus infection. *Atherosclerosis*. 2006.

Pasdar, A; Ross-Adams, H; Cumming, A; Cheung, J, Whalley, L; St Clair, D; Mac Leod, MJ. Paraoxonase gene polymorphisms and haplotype analysis in a stroke population. *BMC Med Genet*. 2006 ;7:28.

Phuntuwate W, Suthisisang C, Koanantakul B, Mackness MI, Mackness B. Paraoxonase 1 status in the Thai population. *J Hum Genet*. 2005;50(6):293-300.

Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics*.1996;33:498-507.

Reddy ST, Wadleigh DJ, Grijalva V Ng CJ, Hama S, Gangopadhyay A, Shih DM, Lusi AJ, Navab M, Fogelman AM. Human Paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. *Arterioscler thromb Vasc Biol*. 2001;21:542-47.

Repa JJ, Mangelsdorf DJ. The liver X receptor gene team: potential new players in atherosclerosis. *Nat Med*. 2002;8(11):1243-8.

Richter RJ, Furlong CE. Determination of paraoxonase (PON1) status requires more than genotyping. *Pharmacogenetics*. 1999;9(6):745-53.

Riddler, S.A.; Smit, E.; Cole, S.R.; Li, R.; Chmiel, J.S.; Dobs, A.; Palella, F.; Visscher, B.; Evans, R.; Kingsley, L.A. Impact of HIV infection and HAART on serum lipids in men. *JAMA*. 2003;289:2978-82.

Rojas-Garcia AE, Solis-Heredia MJ, Pina-Guzman B, Vega L, Lopez-Carrillo L, Quintanilla-Vega B. Genetic polymorphisms and activity of PON1 in a Mexican population. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005;205(3):282-9.

Ronchini KR, Duarte AJ, Casseb JS, Gidlund M. Cardiovascular complications and increased levels of circulating modified low density lipoprotein in HIV patients and patients with lipodystrophy. *Braz J Med Biol Res.*2004;37(1):119-22.

Rosenblat M, Draganov D, Watson CE, Bisgaier CL, La Du BN, Aviram M. Mouse macrophage paraoxonase 2 activity is increased whereas cellular paraoxonase 3 activity is decreased under oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*2003;23(3):468-74.

Rosenblat M, Gaidukov L, Khersonsky O, Vaya J, Oren R, Tawfik DS, Aviram M. The catalytic histidine dyad of high density lipoprotein-associated serum paraoxonase-1 (PON1) is essential for PON1-mediated inhibition of low density lipoprotein oxidation and stimulation of macrophage cholesterol efflux. *J. Biol. Chem.* 2006b;281:7657–65.

Rosenblat M, Oren R, Aviram M. Lysophosphatidylcholine (LPC) attenuates

macrophage-mediated oxidation of LDL. *Biochem Biophys Res Commun*.2006a;344(4):1271-7.

Rosenblat, M; Vaya, J; Shih, DM, et al. Paraoxonase (PON1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA 1 transporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphatidylcholine. *Atherosclerosis*.2005;179:69-77.

Rotger M, Colombo S, Furrer H, Bleiber G, Buclin T, Lee BL, Keiser O, Biollaz J, Decosterd L, Telenti A; Swiss HIV Cohort Study. Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. *Pharmacogenet Genomics*. 2005;15(1):1-5.

Rozenberg, O; Rosenblat, M; Coelman, R. et al. Paraoxonase (PON1) deficiency is associated with increased macrophage oxidative stress: studies in PON1-knockout mice. *Free Rad Biol Med*. 2003a;34:774-84.

Rozenberg, O; Shih, DM; Aviram M. Human serum paraoxonase (PON1) decreases macrophage cholesterol biosynthesis: a possible role for its phospholipase-A2 activity and lysophosphatidylcholine formation. *Arterioscl*

Thromb Vasc Biol. 2003b;23:461-7.

Saint Martin, L; Vandhuick, O; Guillo, P; Bellein, V; Bressollette, L; Roudaut, N; Amaral, A; Pasquier, E. Premature atherosclerosis in HIV positive patients and cumulated time of exposure to antiretroviral therapy (SHIVA study). *Atherosclerosis.* 2006;185:361-7.

Sanghera, D.K.; Aston, C.E.; Saha, N.; Kamboh, M.I.; DNA polymorphisms in two paraoxonase genes (PON1 and PON2) are associated with the risk of coronary heart disease. *American Journal of Human Genetics.* 1998;62:36-44.

Scacchi, R.; Corbo, R. M.; Rickards, O.; DE Stefano, G. F. New data on the world distribution of paraoxonase (PON1 Gln 192→Arg) gene frequencies. *Human Biology.* 2003;75:365-73.

Sen-Banerjee S, Siles X, Campos H. Tobacco smoking modifies association between Gln-Arg192 polymorphism of human paraoxonase gene and risk of myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:2120-6.

Senti M, Tomas M, Elosual R, Sala J, Masia R, Marrugat J. The paraoxonase-1 codon 192 polymorphism is associated with fasting total cholesterol and LDL-cholesterol concentrations only in postmenopausal women. The REGICOR study. *Clin Chem Lab Med*. 2002;40(7):677-83.

Shafran SD, Mashinter LD, Roberts SE. The effect of low-dose ritonavir monotherapy on fasting serum lipid concentrations. *HIV Med*. 2005;6(6):421-5.

Shor-Posner G, Basit A, Lu Y, Cabrejos C, Chang J, Fletcher M, Mantero-Atienza E, Baum MK. Hypocholesterolemia is associated with immune dysfunction in early human immunodeficiency virus-1 infection. *Am J Med*. 1993;94(5):515-9.

Sinan S, Kockar F, Arslan O. Novel purification strategy for human PON1 and inhibition of the activity by cephalosporin and aminoglikozide derived antibiotics. *Biochimie*. 2006;88(5):565-74.

Sonnerborg A, Carlin G, Akerlund B, Jarstrand C. Increased production of malondialdehyde in patients with HIV infection. *Scand J Infect Dis*. 1988;20(3):287-90.

Sorenson RC, Primo-Parmo SL, Kuo CL, Adkins S, Lockridge O, La Du BN. Reconsideration of the catalytic center and mechanism of mammalian paraoxonase/arylesterase. *Proc Natl Acad Sci U S A*.1995;92(16):7187-91.

Stein, J.H. Dyslipidemia in the era of HIV protease inhibitors. *Progress in Cardiovascular Diseases*.2003;45:293-304.

Tarr PE, Taffe P, Bleiber G, Furrer H, Rotger M, Martinez R, Hirschel B, Battegay M, Weber R, Vernazza P, Bernasconi E, Darioli R, Rickenbach M, Ledergerber B, Telenti A; Swiss HIV Cohort Study. Modeling the influence of APOC3, APOE, and TNF polymorphisms on the risk of antiretroviral therapy-associated lipid disorders. *J Infect Dis*. 2005;191(9):1419-26.

Tsiodras, S.; Mantzoros, C.; Hammer, S. et al. Effects of protease inhibitors on hyperglycemia, hyperlipidemia, and lipodystrophy: a 5-year cohort study. *Archives of Internal Medicine*. 2000;160:2050-6.

Tulenکو TN, Sumner AE. The physiology of lipoproteins. *J Nucl Cardiol*. 2002; 9(6):638-49.

Tzavara V, Vlachoyiannopoulos PG, Kordossis T, Galaris D, Travlou A, Dafni U, Moutsopoulos HM. Evidence for non-adaptive immune response in HIV infection. *Eur J Clin Invest.* 1997;27(10):846-9.

Van der Gaag Ms, van Tol A, Scheek LM, et al. Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity: a diet-controlled randomised intervention study in middle-aged men. *Atherosclerosis.* 1999;147:405-10.

van der Valk M, Kastelein JJ, Murphy RL, van Leth F, Katlama C, Horban A, Glesby M, Behrens G, Clotet B, Stellato RK, Molhuizen HO, Reiss P; Atlantic Study Team. Nevirapine-containing antiretroviral therapy in HIV-1 infected patients results in an anti-atherogenic lipid profile. *AIDS.* 2001;15(18):2407-14.

van Himbergen TM, van Tits LJ, Roest M, Stalenhoef AF. The story of PON1: how an organophosphate-hydrolysing enzyme is becoming a player in cardiovascular medicine. *Neth J Med.* 2006;64(2):34-8.

Voetsch, B; Benke, KS; Damasceno, BP, Siqueira, LH; Loscalzo, J: Paraoxonase 192 Gln-> Arg polymorphism: an independent risk factor for

nonfatal arterial ischemic stroke among young adults. *Stroke*. 2002;33:1459-64.

Voestsch, B; Benke, KS; Panhuysen, CI; Damasceno, BP; Loscalzo, J. The combined effect of paraoxonase promoter and coding region polymorphisms on the risk of arterial ischemic stroke among young adults. *Arch Neurol*. 2004;61:351-6.

Wang M, Briggs MR. HDL: the metabolism, function, and therapeutic importance. *Chem Rev*. 2004; 104(1):119-37.

Warnick, GR; Wood, PD. National Cholesterol Education Program Recommendations for Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol: Executive Summary. *Clinical Chemistry*. 1995;41:1427-33.

Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, Navab M. Protective effect of high Density Lipoprotein Associated Paraoxonase: Inhibition of the biological activity of minimally oxidized Low Density Lipoprotein. *J Clin Inv*. 1995;96(6):2882-91.

Zhang Y, Zheng F, Du H, Krepinsky JC, Segbo JA, Zhou X. Detecting the polymorphisms of paraoxonase (PON) cluster in Chinese Han population based on a rapid method. *Clin Chim Acta*. 2006;365(1-2):98-103.