



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**ALTERAÇÕES NO METABOLISMO LIPÍDICO EM PACIENTES HIV
SOROPOSITIVOS**

ELAINE NUNES DAMINELLI

**FLORIANÓPOLIS
2007**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**ALTERAÇÕES NO METABOLISMO LIPÍDICO EM PACIENTES HIV
SOROPOSITIVOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre em Farmácia,
com ênfase em Análises Clínicas, na
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC.
Orientador: Prof. Dr. Celso Spada.

ELAINE NUNES DAMINELLI

**FLORIANÓPOLIS
2007**

“Mestre é alguém que indica um caminho de compreensão; discípulo é alguém que, tendo compreendido, segue sua própria compreensão”.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais pela oportunidade de chegar até aqui.

Ao Prof. Dr. Celso Spada pela oportunidade concedida, confiança depositada, amizade, disponibilidade e empenho em orientar-me

Ao médico Raul Cavalcante Maranhão, pela parceria indispensável para a realização deste trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário, pela viabilização das análises realizadas neste trabalho.

A equipe do Laboratório de Metabolismo de Lípidos do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo apoio e amizade.

Aos pacientes que consentiram em participar deste trabalho, sem os quais o mesmo não seria possível.

Aos amigos que comigo conviveram, pelo apoio, auxílio e amizade e a todos que de alguma forma contribuíram durante a realização deste trabalho.

OBRIGADA.

Elaine N. Daminelli

Florianópolis, 2007.

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
LISTA DE ABREVIATURAS.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	15
1.2 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	16
1.3 AGENTE ETIOLÓGICO.....	17
1.4 ESTRUTURA DO HIV-1.....	18
1.5 CICLO DE VIDA DO HIV.....	20
1.6 EVOLUÇÃO CLÍNICA DA INFECÇÃO PELO HIV-1.....	23
1.7 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL.....	25
1.8 DIAGNÓSTICO E CLASSIFICAÇÃO DA INFECÇÃO PELO HIV-1.....	26
1.9 ANORMALIDADES METABÓLICAS E HIV	28
1.10 METABOLISMO DOS LIPÍDEOS.....	30
1.10.1 TRANSPORTE DE LIPÍDEOS DE ORIGEM EXÓGENA.....	31
1.10.2 TRANSPORTE DE LIPÍDEOS DE ORIGEM ENDÓGENA.....	32
1.10.3 TRANSPORTE REVERSO DO COLESTEROL.....	32
1.11 PARAOXONASE.....	35
1.12 HIV E <i>HIGHLY ACTIVE ANTIRETROVIRAL THERAPY</i> (HAART).....	36
1.13 “LIPOPROTEÍNAS ARTIFICIAIS”	37

2. JUSTIFICATIVA	40
3. OBJETIVOS	41
3.1 OBJETIVO GERAL.....	41
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
4. METODOLOGIA.....	42
4.1 CASUÍSTICA.....	42
4.2 CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4 E T CD8	43
4.3 QUANTIFICAÇÃO DO RNA DO HIV	44
4.4 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE GLICOSE.....	45
4.5 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE COLESTEROL TOTAL.....	45
4.6 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE TRIGLICERÍDEOS.....	46
4.7 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE HDL-COLESTEROL.....	46
4.8 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE LDL-COLESTEROL.....	46
4.9 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE VLDL-COLESTEROL.....	47
4.10 PREPARO DA LDE.....	47
4.11 TRANSFERÊNCIA DE COLESTEROL LIVRE, COLESTEROL ÉSTER, TRIGLICERÍDEOS E FOSFOLÍPIDES DA LDE PARA A HDL.....	48
4.12 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA PARAOXONASE (PON1).....	48
4.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	50
5 RESULTADOS.....	51
5.1 CONSTITUIÇÃO DOS GRUPOS ESTUDADOS.....	51
5.2 VERIFICAÇÃO DO PESO E ÍNDICE DE MASSA CORPORAL (IMC).....	51
5.3 CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE GLICOSE.....	51
5.4 CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE LÍPIDES.....	51
5.5 ATIVIDADE SÉRICA DA ENZIMA PARAOXONASE.....	52

5.6 PERCENTAGEM DE TRANSFERÊNCIA LIPÍDICA.....	52
6. DISCUSSÃO.....	58
6.1 IMC.....	58
6.2 COLESTEROL TOTAL, TG, LDL, HDL E VLDL.....	59
6.3 PARAOXONASE.....	61
6.4 TAXA DE TRANSFERÊNCIA DO COLESTEROL LIVRE, COLESTEROL ÉSTER, TRIGLICÉRIDES E FOSFOLÍPIDES DA LDE PARA A HDL NOS GRUPOS HIV SOROPOSITIVOS E CONTROLE.....	63
7. CONCLUSÕES.....	66
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
ANEXOS.....	79
ANEXO 1. PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS.....	80
ANEXO 2. TERMO DE CONSENTIMENTO.....	81
ANEXO 3. TABELA COM AS MÉDIAS DE CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4 E T CD8 E CARGA VIRAL DOS PACIENTES HIV SOROPOSITIVOS.....	83

RESUMO

ALTERAÇÕES NO METABOLISMO LIPÍDICO EM PACIENTES HIV SOROPOSITIVOS.

O HIV infecta e depleta os linfócitos T CD4, resultando em imunodeficiência e progressão da doença. Os pacientes infectados pelo HIV, geralmente, apresentam dislipidemia. Este processo pode ser decorrente de alterações no metabolismo das lipoproteínas causado pela produção de citocinas, as quais são mediadoras da resposta imune. Durante a infecção pelo HIV ocorrem alterações metabólicas, incluindo diminuição dos níveis séricos de HDL e como a sobrevivência desses indivíduos está sendo prolongada pela terapia antirretroviral, estes estão expostos a importantes fatores de risco para doenças cardiovasculares. A HDL tem propriedades antioxidantes que podem ser mediadas pela ação da paraoxonase 1 (PON1). Esta enzima está, predominantemente, associada com a HDL e catalisa a degradação de fosfolípides provenientes da LDL oxidada. Outras ações antiaterogênicas da HDL são: sua propriedade antitrombótica, antioxidante, antiinflamatória e endotelial. O objetivo do presente estudo é determinar os níveis plasmáticos lipídicos e a habilidade da HDL em receber lipídios, como o colesterol livre (CL), o colesterol éster (CE), os fosfolípides (FL) e triglicérides (TG), bem como a atividade da PON1 em pacientes HIV soropositivos. Participaram do estudo 48 pacientes infectados pelo HIV. As amostras de sangue foram coletadas após 12 horas de jejum e foram determinadas as concentrações séricas de glicose, de colesterol total, de triglicérides, de LDL-colesterol, de HDL-colesterol, a atividade de PON1 e a transferência de lipídios marcados radioativamente de uma nanoemulsão (LDE) para HDL. Os resultados mostram que os pacientes HIV soropositivos apresentaram concentrações de LDL e triglicérides menores que os grupo controle, a atividade da PON1 e a transferência de lipídios para HDL está alterada nestes pacientes. Comparado com o grupo controle, a transferência de fosfolípides ($17,5 \pm 0,9\%$ no controle e $23,4 \pm 1,6\%$ no HIV+) para a HDL foi maior nos pacientes HIV +. A transferência de colesterol livre ($6,3 \pm 1,1$ e $5,0 \pm 1,1\%$) e de triglicérides ($3,5 \pm 0,6$ e $2,7 \pm 0,7\%$) foi menor neste grupo. A troca de lipídios das partículas de HDL e para estas partículas é um passo crucial no transporte reverso do colesterol e é fundamental que neste processo as subclasses de HDL sejam coordenadas. Os resultados deste estudo indicam que este processo está alterado e contribui para o aumento do risco de doenças cardiovasculares.

Palavras chave: Infecção pelo HIV, paraoxonase 1, lipoproteínas de transferência, lipoproteínas de alta densidade (HDL).

ABSTRACT

ALTERATIONS IN THE LIPIDS METABOLISM IN HIV SEROPOSITIVE PATIENTS.

The HIV infects and depletes CD4 lymphocytes, resulting in immunodeficiency and a slowly progressive disease. The HIV infected patients generally present dyslipidemia. This process is thought to be the result of alterations in lipoprotein metabolism produced by cytokines that mediate the immune response. During HIV infection metabolic alterations, including low HDL cholesterol levels, are often found and as the survival of those subjects is being increasingly prolonged by treatment they are exposed to the important risk factors for coronary artery disease. The HDL has antioxidant properties that are mediated mainly by paraoxonase 1 (PON1) action. This enzyme is predominantly associated with the HDL fraction and catalyzes the degradation of oxidized LDL phospholipids. Other potentially antiatherogenic actions of HDL are the antiadhesive, antioxidant, anti-inflammatory and endothelial function. The present study aimed to determine plasma lipid levels and the ability of HDL of receiving lipids, such as free cholesterol (FC), cholesteryl esters (CE), phospholipids (PL), and triglycerides (TG) as well as the PON1 activity in HIV seropositive patients. 48 HIV seropositive patients participated in the study. Blood samples were collected after a 12 hour fast and the glucose, total cholesterol, triglycerides, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, PON1 activity and the transfer of the nanoemulsion radioactive lipids to HDL were determined. The results show that in HIV serum positive patients the LDL cholesterol and triglyceride concentrations were smaller than those of controls; on the other hand, PON1 activity and lipid transfer to HDL were disturbed in the patients. Compared to controls, the transfer of PL (17.5 ± 0.9 % in controls and 23.4 ± 1.6 % in HIV+) to HDL was greater in the HIV+ patients. In contrast, the FC (6.3 ± 1.1 and 5.0 ± 1.1 %) and TG (3.5 ± 0.6 and 2.7 ± 0.7 %) transfer to HDL was smaller. The exchange of lipids to and from HDL particles are a crucial part of reverse cholesterol transportation and it clearly requires coordinated metabolic regulation of HDL subclasses. The results from study indicate that this process is altered and contribute to increased risk of coronary artery disease.

Keywords: HIV-infection, Paraoxonase-1, transfer lipoproteins, High-density lipoproteins.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Estrutura da partícula viral do HIV-1 e eletromicrografia.....	19
FIGURA 2 - Representação da estrutura do genoma das partículas virais do HIV-1.....	19
FIGURA 3 - Representação esquemática do ciclo da replicação viral do HIV-1.....	21
FIGURA 4 - Perfil do número de linfócitos T CD4+ e dos níveis plasmáticos de RNA do HIV durante a infecção pelo HIV.....	24
FIGURA 5 - Taxa de transferência do colesterol livre, colesterol éster, triglicérides e fosfolípidos da LDE para a HDL nos grupos HIV soropositivos e Controle.....	56

LISTA DE TABELAS

TABELA I: Classificação da infecção pelo HIV, proposta pelo CDC e utilizada a partir de 1993.....	27
TABELA II: Distribuição dos indivíduos, nos diferentes grupos estudados, de acordo com o sexo.....	54
TABELA III: Distribuição dos indivíduos de acordo com a idade, o peso, a altura e o IMC dos grupos estudados.....	54
TABELA IV: Concentrações plasmáticas dos lipídios e glicose dos grupos HIV soropositivos e Controle.....	55
TABELA V: Media da atividade da paraoxonase nos grupos HIV soropositivos e Controle.....	55
TABELA VI: Correlações entre a transferência as taxas de transferência de colesterol livre (^{14}C -CL), de fosfolípide (^{14}C -PL), de colesterol éster (^3H -CE) e de triglicérides (^3H -TG) e as concentrações séricas de lipídios, glicose, carga viral, contagem de células T CD4 E CD8 e Índice De Massa Corpórea.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS

- ¹⁴C-CL: Taxa de transferência do colesterol livre
- ¹⁴C-PL: Taxa de transferência do fosfolípide
- ³H-CE: Taxa de transferência do colesterol éster
- ³H-TG: Taxa de transferência do triglicéride
- ABCA1: Transportador de membrana (*adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette*)
- ACAT: Acetil-coenzima A: Colesterol acil transferase
- AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*)
- CAT: Catalase
- CCR5: Receptor de quimiocinas
- CD4: Grupo de diferenciação (*Cluster of differentiation*) de células T restritas à classe II do MHC
- CD8: Grupo de diferenciação de células T restritas à classe I do MHC (linfócitos T citotóxicos)
- CDC: *Center for Disease Control and Prevention*
- CE: Colesterol éster
- CETP: Proteína de transferência de colesterol éster (*Cholesterol Ester Transfer Protein*)
- CL: Colesterol livre
- CXCR4: Receptor de quimiocinas
- DNA: Ácido desoxirribonucléico
- EDTA: Anticoagulante – Ácido etilendiamino tetra-acético (*Ethylene Diamine Tetracetic*)
- EIAV: *Equine Infectious Anemia Virus*
- ELISA: Ensaio imunoabsorvente enzima-ligado (*Enzyme-linked immunosorbent assay*)
- EROs: Espécies Reativas de Oxigênio
- G6PD: Glicose-6-fosfato desidrogenase
- gp120: Glicoproteína 120
- gp160: Glicoproteína 160
- gp41: Glicoproteína 41
- GPx: Glutathione peroxidase
- GR: Glutathione reductase
- HAART: Terapia antirretroviral altamente ativa (*Highly Active Antiretroviral Therapy*)
- HDL: Lipoproteína de alta densidade (*High-density Lipoprotein*)

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana (*Human Immunodeficiency Virus*)

HTLV: Vírus linfotrófico humano (*Human T-Lymphotropic Virus*)

IDL: Lipoproteína de densidade intermediária (*Intermediate Density Lipoprotein*)

IL: Interleucina

IMC: Índice de massa corpórea

IP: Inibidor de protease

ITRN: Inibidor nucleosídeo da transcriptase reversa (*Nucleoside Analogue Reverse Transcriptase inhibitor*)

ITRNN: Inibidor não-nucleosídeo da transcriptase reversa (*Non- Nucleoside Reverse Transcriptase inhibitor*)

I- κ B: Proteína inibitória κ -B (Inhibitor Protein κ -B)

LAV: Vírus associado a linfadenopatia (*Lymphadenopathy-Associated Virus*)

LCAT: Lecitina-Colesterol-Acila-Transferase (*Lecithin Cholesterol Acyl Transferase*)

LDE: Nanoemulsão rica em colesterol

LDL: Lipoproteína de baixa densidade (*Low-density Lipoprotein*)

LE: Lípase endotelial

LH: Lípase hepática

LLH: Lipoproteína-Lípase Hepática

LP: Lipoproteína

LTR: Repetições terminais longas (*Long Terminal Repeats*)

mRNA: RNA mensageiro

NASBA: Amplificação seqüencial de ácidos nucleicos (*Nucleic Acid Sequence-based Amplification*)

NF- κ B: Fator de transcrição nuclear de células T ativadas (Nuclear Transcription Factor of Activated T Cells)

OMS: Organização Mundial da Saúde

p17: Proteína 17

p24: Proteína 24

p50: Proteína 50

p65: Proteína 65

p7: Proteína 7

p9: Proteína 9

PCR: Reação em cadeia da polimerase (*Polimerase Chain Reaction*)

PL: Fosfolípide (Phospholipids)

PLTP: Proteína de transferência de fosfolipídios (*Phospholipids Transfer Protein*)

PON: Paraoxonase

QM: Quilomícron

rLDL: Receptor de LDL

RNA: Ácido ribonucléico

SIV: *Simian Immunodeficiency Virus*

SOD: Superóxido dismutase

SR-BI: Receptores scavenger de classe B do tipo I (*scavenger receptor class B type I*)

TG: Triglicerídios

TNF- α : Fator de necrose tumoral α (*Tumor Necrosis Factor Receptor- α*)

TNF- β : Fator de necrose tumoral β (*Tumor Necrosis Factor Receptor- β*)

TRC: Transporte reverso do colesterol

VLDL: Lipoproteína de muito baixa densidade

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) foi descrita em 1981, nos Estados Unidos, quando foram notificados ao *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) os primeiros casos de pneumonia por *Pneumocystis carinii*, atualmente denominado *Pneumocystis jirovecii* e de Sarcoma de Kaposi em homossexuais masculinos previamente saudáveis de Nova York e Los Angeles e que, também apresentavam infecções por outros microrganismos oportunistas, entre eles a *Candida albicans* (GOTTLIED et al., 1981; LEVY et al., 1985; GOLDSBY, KINDT, OSBORNE, 2000).

Alguns meses depois novos casos de AIDS foram diagnosticados em usuários de drogas injetáveis do sexo masculino e feminino, em hemofílicos e receptores de transfusões sanguíneas contaminados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) (WYNGAARDEN & SMITH, 1990; FAUCI et al., 1998).

Em 1983, o vírus da imunodeficiência humana, foi isolado a partir de um paciente com AIDS e de um paciente com linfadenopatia persistente, pelos grupos de Gallo e colaboradores (1984) e Montagnier e colaboradores (BARRÉ-SINOUSSE et al., 1983). Inicialmente, o vírus foi denominado como *Human T-Lymphotropic Virus* (HTLV) (GALLO et al., 1984) e como *Lymphadenopathy-Associated Virus* (LAV) (BARRÉ-SINOUSSE et al., 1993). Em 1986, recebeu a nomenclatura oficial *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) (COFFIN et al., 1986).

O HIV já foi isolado de quase todos os fluídos corporais como sangue, sêmen, urina, secreção vaginal, leite materno, saliva e lágrima (PEAKMAN & VERGANI, 1999; CDC, 2006).

A transmissão do HIV pode ocorrer por intercuro sexual, compartilhamento de seringas contaminadas, inoculação de sangue contaminado ou derivados, transplante de órgãos ou tecidos,

inseminação artificial, materno fetal, uso de objetos contaminados, procedimentos dentários, tatuagem e acupuntura. A transmissão não ocorre por contato casual, ar, alimentos, água, contato com objetos inanimados ou insetos (CDC, 2005).

O uso de drogas injetáveis e o contato sexual, onde há o contato com espermatozoides e sangue contaminados, são as principais vias de transmissão (FRIEDLAND & KLEIN, 1987). Associado às vias de transmissão do HIV, as co-infecções virais, como sífilis e herpes genital, aumentam a predisposição à infecção pelo HIV, bem como a progressão para a doença (CDC, 2005).

A pandemia da infecção pelo HIV vem sendo acompanhada por uma gama crescente de informações quanto à patogenia, tratamento, profilaxia das infecções oportunistas associadas ao HIV e pesquisa para o desenvolvimento de vacinas (FAUCI et al., 1998).

1.2 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2006, a epidemia da AIDS vem ressurgindo em alguns países onde os índices haviam se estabilizado ou declinado. Segundo a UNAIDS e a OMS (2006), o número de pessoas vivendo com HIV continua crescendo, assim como o número de mortes atribuídos a AIDS. Estima-se que 39,5 milhões de pessoas estão vivendo com AIDS no mundo. Destes 37,2 são adultos, 17,7 são mulheres, 17,2 são homens e 2,3 são crianças menores de 15 anos de idade. Foram registrados 4,3 milhões de novos casos, 3,8 milhões em adultos, 530000 em crianças, 2,9 milhões de mortes, 2,6 milhões em adultos e 380000 crianças (UNAIDS/WHO, 2006).

No Brasil, estima-se que cerca de 593 mil pessoas vivam com HIV ou AIDS. Segundo a OMS, o Brasil mantém sua posição entre os países com epidemia com prevalência de 0,61% entre a população de 15 a 49 anos de idade, sendo 0,42% mulheres e 0,80% homens. Dos casos notificados até Junho de 2006, 62,3% se concentravam na região Sudeste, 17,9% na região Sul, 11% no Nordeste, 5,6% no Centro-Oeste e 3,2% na região Norte. Do total de casos notificados 67,2% foram do sexo masculino e 32,8% do sexo feminino (Boletim Epidemiológico, 2006).

De 1980 a 2005, ocorreram 183.074 óbitos por AIDS no Brasil, sendo 68,9% na região Sudeste, 15,1% no Sul, 9,2% no Nordeste, 4,4% no Centro-Oeste e 2,4% na região Norte (Boletim Epidemiológico, 2006).

Santa Catarina é o quinto colocado no ranking nacional de AIDS, com uma taxa de incidência de 18,4 casos/100 mil habitantes. Desde 1984 a 2005 foram registrados 16960 casos, destes 16142 eram adultos e 818 crianças. A categoria de exposição em 2005 era 73,9% heterossexual, 7,1% homossexual e 10,2% usuário de drogas injetáveis, com faixa etária entre 20 a 49 anos de idade (SANTA CATARINA, 2007). Os municípios com maior número de casos registrados estão no litoral. A Capital com 2864 casos, Joinville com 1817, Itajaí com 1772, Blumenau com 1108, São José com 1003 e Balneário Comburui aparece na sétima posição com 651 casos (Boletim Epidemiológico, 2006).

A epidemia da AIDS completou duas décadas no ano de 2000. Caracterizada por uma contínua transformação e segue atingindo novos segmentos populacionais, de forma crescente e em estratos sociais menos favorecidos, além, de estar chegando a cidades onde, até então, sua presença não havia sido registrada (CASTILHO et al., 2000).

Tem-se observado um esforço global em combater a epidemia da AIDS nos últimos anos, incluindo maior acesso a terapia medicamentosa e programas de prevenção (UNAIDS/WHO, 2006).

1.3 AGENTE ETIOLÓGICO

O agente etiológico da imunodeficiência humana é o HIV, um retrovírus humano não-oncogênico pertencente à família dos lentivírus (VERONESI & FOCACCIA, 1996; KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005). Outros exemplos de lentivírus incluem *Simian Immunodeficiency Virus* (SIV), *Visna Virus* e *Equine Infectious Anemia Virus* (EIAV) (TURNER & SUMMERS, 1999).

Os lentivírus podem infectar e se replicarem em células que não estão em divisão, incluindo monócitos/macrófagos, células dendríticas, células de langerhans, astrócitos, células do sistema nervoso central e, principalmente, linfócitos T CD4 que são responsáveis pela defesa imunológica (FIGDOR; KOOYK; ADEMA; 2002; HERBEIN et al., 2002; NIELSEN; PEDERSEN; KJEMS, 2005).

Uma vez instalada, a infecção se propaga pelo sistema linfático chegando aos tecidos que contêm células dendríticas que podem atuar como reservatórios, permanecendo assim o vírus latente (NIELSEN; PEDERSEN; KJEMS, 2005).

Existem geneticamente duas formas distintas do HIV, porém relacionadas, denominadas HIV-1 e HIV-2. O HIV-1 é o tipo mais comum associado à AIDS no Continente Americano, Europa e África Central, enquanto o HIV-2 causa doença semelhante, principalmente na África Ocidental e na Índia, parece ser menos patogênico que o HIV-1 e a progressão parece ser mais lenta. Embora distintos, o HIV-1 e o HIV-2 compartilham alguns antígenos. Atualmente, o sangue coletado para transfusão é submetido à triagem rotineira para soropositividade tanto do HIV-1 quanto para o HIV-2 (WHITTLE et al., 1994; KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005).

1.4 ESTRUTURA DO HIV-1

Em 1984, três anos após os primeiros relatos da infecção pelo HIV, pesquisas demonstraram que o agente viral causador da doença era o vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) (CDC, 1999).

Semelhante à maioria dos retrovírus, o HIV-1 é um vírus esférico de aproximadamente 120 nm e contém um cerne/núcleo eletrodense, cilíndrico, envolto por um invólucro lipídico derivado da membrana celular do hospedeiro (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005). Nessa camada lipídica observam-se projeções, que são as glicoproteínas gp120 (proteína externa do envelope) e gp 41 (proteína transmembrana), responsáveis pela ligação com os receptores CD4 da célula hospedeira. O capsídeo viral é circundado por uma matriz protéica, formada pelas proteínas p17 e p24, o nucleocapsídeo é formado pela proteína p7 e p9. No interior do capsídeo viral encontra-se o genoma viral, com duas fitas simples de RNA e as principais enzimas virais (integrase, transcriptase reversa e protease) (figura 1) (BUKRINLKY et al., 1993; SERB & YEUNG, 1994).

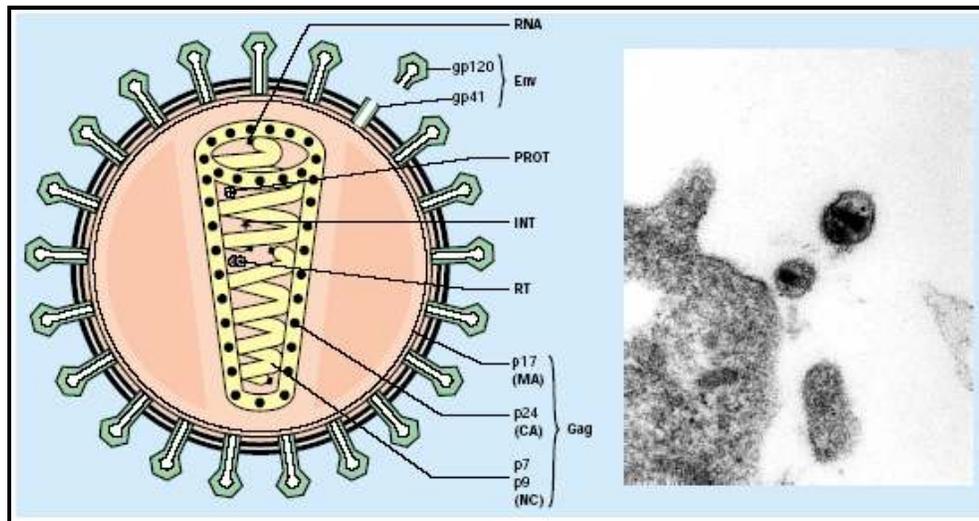


FIGURA 1: Estrutura da partícula viral do HIV-1 e eletromicrografia.

Fonte: BARRÉ-SINOUSI, 1996.

O genoma de RNA do HIV-1 contém os genes *gag*, *pol* e *env*, que codificam as proteínas estruturais do vírus e são comuns a todos os retrovírus (STEFFY & WONG-STAAAL, 1991). O gene *gag* codifica as proteínas que formam o núcleo do vírus (incluindo o antígeno p24), o *pol* codifica as enzimas responsáveis pela transcrição reversa e integração e o *env* codifica as glicoproteínas do envoltório (gp120 e gp41) (FAUCI et al., 1998). O HIV-1, apresenta ainda, outros genes (*tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr* e *vpu*), que codificam as proteínas envolvidas na regulação da expressão gênica. Juntos a estes genes existem seqüências nucleotídicas denominadas repetições terminais longas (LTR), que desempenham importante função na ativação do processo de transcrição do genoma viral (figura 2) (TRONO, 1995; FAUCI et al., 1998).

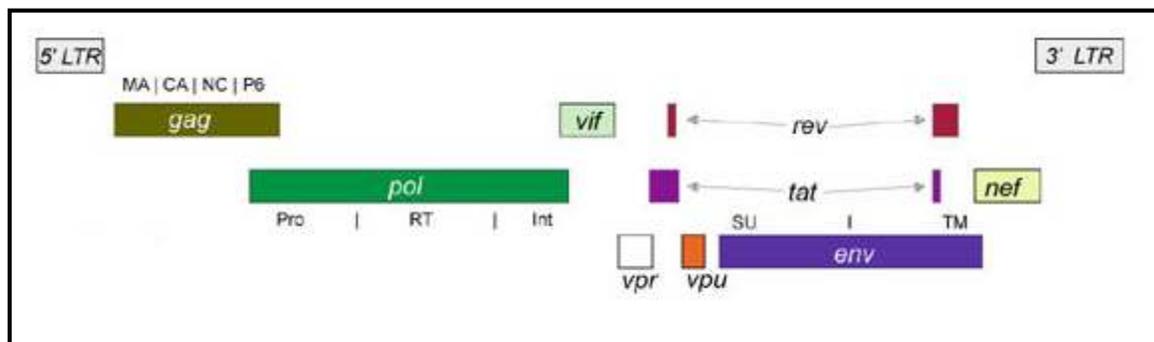


FIGURA 2: Representação da estrutura do genoma das partículas virais do HIV-1.

Fonte: Disponível em: <http://www.aids.harvard.edu/research/discoveries.html>. Acesso em: 11 de Jun. 2006.

Em 1986, um segundo tipo de HIV foi isolado de pacientes na África Ocidental com sinais e sintomas semelhantes aos da AIDS. Tal vírus ao ser isolado, foi clonado molecularmente e caracterizado, mostrando constituir-se de uma segunda classe de vírus da imunodeficiência humana, denominado HIV-2. O HIV-2 guarda uma correlação de 40 a 50% com o HIV-1 em termos de homologia completa da seqüência de nucleotídios. Existem duas diferenças principais na organização genômica do HIV-1 e HIV-2. O gene *vpu* do HIV-1 não é encontrado no HIV-2, e este contém um gene adicional, *vpx*, em uma região central que não existe no HIV-1, e pode apresentar uma função similar relacionada ao transporte nuclear. Da mesma forma que o HIV-1, o HIV-2 infecta seletivamente as células CD4, e as evidências sugerem que o HIV-2 seja menos virulento que o HIV-1 e provocaria a doença mais lentamente (CDC, 1998; SANDE & VOLBERDING, 1999; GOLDMAN & BENNETT, 2001).

1.5 CICLO DE VIDA DO HIV

O ciclo de vida do HIV (figura 3) é importante para compreender o mecanismo da infecção e conhecer pontos estratégicos para intervenções terapêuticas contra o HIV. Uma vez o HIV no interior do corpo humano, a glicoproteína gp160, expressa pelo vírus, permite a ligação do HIV com receptores CD4, proteínas presentes na superfície celular de linfócitos T-helper (Th), monócitos, macrófagos, células dendríticas e outras (DALGLEISH et al., 1984). A glicoproteína gp160 consiste em duas subunidades, gp120 e gp41. A subunidade gp120 tem alta afinidade com o receptor CD4, uma proteína que atua na coordenação celular e humoral da resposta imune contra antígenos exógenos, e é responsável por iniciar a ligação do vírus com a célula CD4 (DALGLEISH et al., 1984; McCUNE, 2001).

Muitas partículas virais infectam primeiramente os linfócitos Th (linfócitos T CD4), as partículas que não infectam monócitos ou macrófagos são chamadas T-trópicas e aquelas que infectam monócitos ou macrófagos são chamadas M-trópicas (COCCHI et al., 1995). A região V3 loop da gp120 parece ser a responsável por este tropismo. Uma vez iniciada a ligação, ocorre uma associação íntima do HIV e a célula hospedeira. Somente a ligação com as células CD4 não é suficiente, a gp120 do HIV deve também ligar-se com outras moléculas de superfície celular (co-receptores) para ocorrer a infecção. Dois receptores de quimiocinas exercem esta função, CCR5 e CXCR4 (FENG et al., 1996; DORANZ et al., 1996). Essa ligação provoca uma mudança

conformacional que resulta na formação de um novo sítio de reconhecimento na gp120 para os co-receptores CCR5 ou CXCR4. Em seguida, ocorrem alterações conformacionais na gp41 que resultam na fusão do vírus com a célula hospedeira (LA BRANCHE et al., 2001). Essa fusão permite a entrada do núcleo viral na célula alvo contendo proteínas, enzimas e o RNA genômico viral no citoplasma da célula (GOODENOW et al., 1989; COFFIN, 1995).

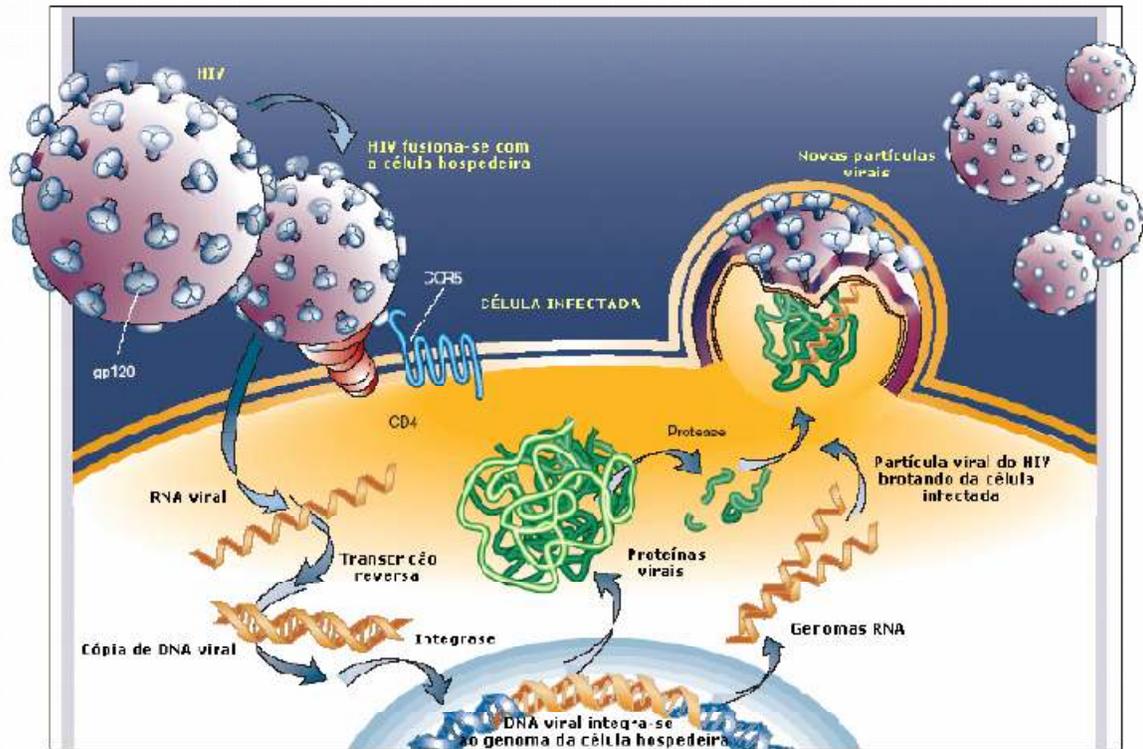


FIGURA 3: Representação esquemática do ciclo da replicação viral do HIV-1.

Fonte: Adaptado de WEISS, 2001.

Uma vez no citoplasma, o RNA viral é transcrito para DNA através da enzima viral transcriptase reversa (WEISS, 2001). A transcriptase reversa sintetiza uma seqüência complementar do DNA usando o RNA viral como modelo. A porção RNA deste DNA híbrido é parcialmente removida pela ribonuclease H, permitindo a síntese completa da dupla fita de DNA pela transcriptase reversa. A fidelidade da transcriptase reversa durante a transcrição do RNA não é eficiente e muitos erros são cometidos durante este processo (PRESTON et al., 1988). Esses erros no produto final de DNA contribuem para a rápida mutação do vírus. Após a transcrição reversa do RNA, o DNA sintetizado migra para o núcleo e integra-se aos cromossomos das células hospedeiras através da integrase, outra enzima exclusiva do HIV (MICHIE et al., 1992).

A integração do pró-vírus é um processo que desencadeia alterações na célula como: o HIV pode estabelecer uma infecção crônica e persistente, principalmente nas células de memória, os linfócitos T (MICHIE et al., 1992). A integração é aleatória, o que dificulta estabelecer um alvo de ataque e extrair a seqüência viral integrada. Essa integração aleatória pode causar anormalidades celulares, levando ao desenvolvimento de câncer (CHOWERS et al., 1994).

A ativação celular por antígenos, citocinas ou outros fatores induzem a célula a produzir fator nuclear κ B (NF- κ B). Normalmente, NF- κ B regula a expressão de genes envolvidos no crescimento de linfócitos T, mas também podem ativar a replicação do HIV-1 (CHOWERS et al., 1994).

A transcrição dos genes a partir do provírus (DNA do HIV integrado) é regulada pelas LTRs dos genes da estrutura viral e essas possuem seqüências específicas que constituem sítios de ligação para fatores de transcrição de células do hospedeiro, um desses fatores é o complexo NF- κ B (p50/p65) que liga-se predominantemente a essas regiões (WU & MARSH, 2003)

O ciclo da replicação viral é estimulado pela ação de algumas citocinas como TNF- α , TNF- β , IL-1, IL-2, IL-6 e espécies reativas de oxigênio (EROs) que ativam o fator de transcrição nuclear NF- κ B. O NF- κ B encontra-se no citoplasma e sua ativação ocorre através da fosforilação e proteólise do I- κ B, sua porção inibitória, e subsequente translocação para o núcleo, onde se liga às LTRs do HIV-1 (HENKEL et al., 1993; BOSSIS et al., 2002).

Inicialmente, são sintetizados transcritos de RNA viral que codificam as proteínas regulatórias Tat, Rev e Nef (TURNER & SUMMERS, 1999). A proteína viral Tat é um potente regulador de transcrição, atua como um fator de alongação que permite a transcrição do RNA viral (MARCELLO; ZOPPÉ; GIACCA, 2001). A proteína viral Nef está envolvida na regulação de fatores de transcrição celulares, promovendo a replicação do HIV de maneira indireta, sendo que a ativação dessas células é necessária para que ocorra a replicação viral (LAHTI; MANNINEN; SAKSELA, 2003).

No núcleo da célula hospedeira, a proteína acessória Rev se liga a uma seqüência específica do RNA e também a uma proteína de transporte núcleo-citoplasma do hospedeiro (Crm1), ativando a via de transporte das seqüências de RNA mensageiro (mRNA), o qual é responsável pelo transporte da informação genética do núcleo para o citoplasma, onde ocorre a síntese das proteínas do HIV (TURNER & SUMMERS, 1999). Nesta etapa, a enzima protease cliva as

proteínas imaturas do HIV-1 em proteínas virais funcionais e novos vírus brotam da célula infectada (Figura 3) (McCUNE, 2001).

O HIV-1 apresenta um alto índice de replicação, com cerca de 10 bilhões de novos vírus a cada dia, atingindo níveis suficientemente elevados para causar a morte celular (HO et al., 1995; McCUNE, 2001). A maior parte das células infectadas podem ser destruídas por: a) lise celular pelo brotamento de novos vírus; b) acúmulo de DNA viral não integrado; c) interferência na síntese de proteína; d) formação sincício ou e) apoptose. (PANTALEO; GRAZIOSI; FAUCI, 1993).

A infecção pelo HIV acarreta anormalidades na função dos linfócitos T CD4, linfócitos B, monócitos, macrófagos, secreção de imunoglobulinas, fenômenos autoimunes e outras manifestações (LANE et al., 1983; SMITH et al., 1984; PANTALEO; GRAZIOSI; FAUCI, 1993).

1.6 EVOLUÇÃO CLÍNICA DA INFECÇÃO PELO HIV-1

Os eventos associados à infecção primária pelo HIV-1 são fundamentais para determinar a evolução subsequente da doença causada pelo HIV. O vírus que entra diretamente na corrente sanguínea, pelo sangue, ou hemoderivados contaminados, é levado para o baço e outros órgãos linfóides, onde se replica até um nível crítico e a seguir produz um surto de viremia que dissemina o vírus para todo o organismo. Os linfócitos T CD4+ e as células da linhagem monocítica são os principais alvos da infecção. Algumas hipótese sugerem que as células dendríticas sejam transportadoras e apresentadoras eficientes do HIV aos linfócitos T CD4+ e isto é compatível com sua função como apresentadoras eficientes de antígenos durante o processamento da resposta imune normal a um antígeno (FAUCI et al., 1998).

Aproximadamente, 50% dos casos de infecção primária pelo HIV são assintomáticos e 50% dos pacientes desenvolvem sintomas semelhantes aos da gripe durante as primeiras quatro semanas após a infecção. Durante a infecção primária, o número de partículas virais está extremamente elevada no sangue periférico, aproximadamente 5 milhões de cópias RNA/mL de RNA e o número de linfócitos T CD4+ decresce significativamente (PIATAK et al., 1993, GANDHI & WALKER, 2002). Em seguida, ocorre uma resposta imune celular específica e subsequente à síntese de anticorpos contra o HIV, levando ao declínio da carga viral no plasma e

cronificação da infecção. No entanto, o estágio assintomático da infecção é acompanhado por uma replicação viral persistente nos linfonodos e rápida renovação de vírus no plasma e linfócitos T CD4+, o que é chamado de latência clínica (PANTALEO et al., 1993; HO et al., 1995; WEI et al., 2003). Durante o curso da latência clínica, o número de linfócitos T CD4+ decresce progressivamente em consequência do comprometimento do sistema imune do paciente que não é mais capaz de controlar os patógenos oportunistas (SIERRA; KUPFER; KAISER, 2005).

Apesar das respostas imunes celular e humoral vigorosamente desencadeadas após a infecção primária, com poucas exceções, o vírus não é totalmente eliminado do organismo. Pelo contrário, desenvolve-se uma fase crônica que persiste com graus variáveis de replicação virótica, que se estende em média por 10 anos, antes que o paciente desenvolva doença grave, sendo que a característica fundamental da doença causada pelo HIV é a infecção crônica (figura 4) (FAUCI et al., 1998).

No estágio de AIDS, período avançado da infecção pelo HIV, geralmente, a contagem de células T CD4 está abaixo de 200 células/mm³, e como consequência a replicação viral encontra-se elevada, fato este que, causa desequilíbrio imunológico e resulta no aparecimento de manifestações clínicas (ROSOK et al., 1996; HAASE, 1999).

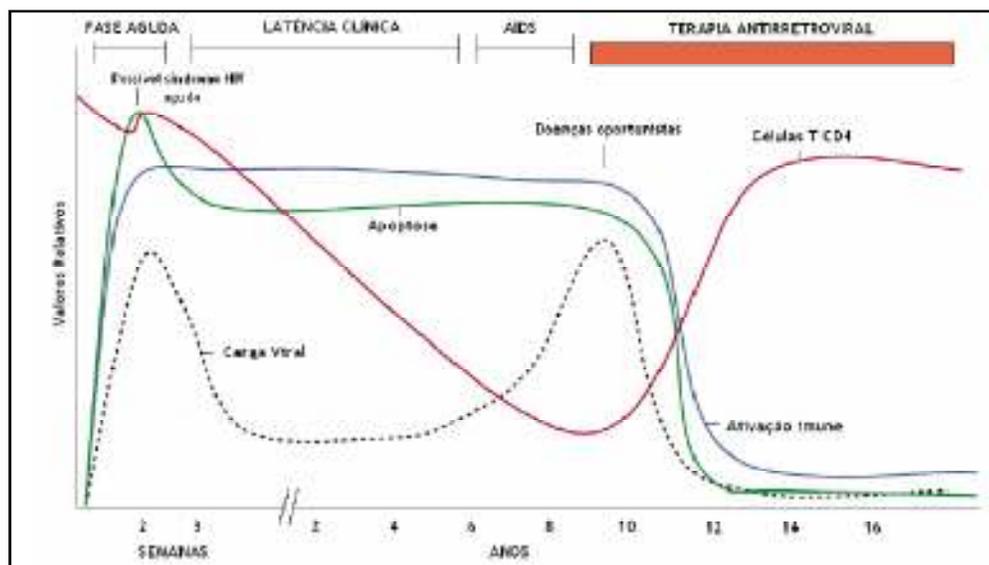


FIGURA 4: Perfil do número de linfócitos T CD4+ e dos níveis plasmáticos de RNA do HIV durante a infecção pelo HIV.

Fonte: Adaptado de GOUGEON, 2003.

1.7 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

Com a descoberta da relação entre altos níveis de carga viral plasmática e a progressão da doença causada pelo HIV, tem-se desenvolvido terapias antirretrovirais para reduzir a viremia plasmática. Praticamente todos os passos do ciclo de vida do vírus podem ser alvos para a terapia antirretroviral (SIERRA; KUPFER; KAISER, 2005).

Os componentes fundamentais do tratamento clínico da infecção pelo HIV são os agentes antirretrovirais. A supressão da replicação do HIV é um elemento importante para prolongar a vida, bem como melhorar a qualidade de vida dos pacientes HIV soropositivos (FAUCI et al., 1998).

Existem quatro classes de antirretrovirais disponíveis para o uso clínico, inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN), inibidores de transcriptase reversa não nucleosídeos (ITRNN), os quais têm o objetivo de bloquear a transcrição do RNA viral, inibidores da protease (IP) com o objetivo de bloquear a clivagem das proteínas do HIV que garantem sua infectividade e recentemente, uma quarta classe de medicamentos antirretrovirais que se ligam às proteínas do envelope do HIV envolvidas na fusão do vírus às suas células alvo, tem sido utilizada como coadjuvantes na terapia antirretroviral, os inibidores de fusão (CHAIX et al., 2000; LALEZARI et al., 2003).

Atualmente, vem sendo utilizada uma estratégia terapêutica chamada de terapia antirretroviral de alto impacto (*Highly Active Antiretroviral Therapy* – HAART), a qual envolve o uso de agentes de no mínimo duas classes distintas de antirretrovirais (HAMMER et al., 2006). A maioria dos indivíduos infectados pelo HIV, submetidos a HAART, demonstrou aumento na contagem de células T CD4 e redução da viremia plasmática. Essa terapia pode ser mantida por anos, no entanto, ela pode ser limitante, tendo em vista o desenvolvimento de resistência viral, graves efeitos adversos, interações farmacológicas ou escolha personalizada para cada paciente (SIERRA; KUPFER; KAISER, 2005).

Segundo o Ministério da Saúde (2006), o início da terapia é recomendado para pacientes com manifestações clínicas associadas ao HIV independente da contagem de linfócitos T CD4 e da carga viral plasmática, e para aqueles com contagem de linfócitos T CD4 abaixo de 200 células/mm³, independente da presença de sintomas ou da magnitude da carga viral. Além de terapia antirretroviral, a quimioprofilaxia para as infecções oportunistas deve ser adotada sempre

que a contagem de linfócitos T CD4 estiver próxima ou inferior a 200 células/mm³ ou quando houver condição clínica sugestiva da imunodeficiência associada ao HIV (Ministério da Saúde, 2006).

A terapia antirretroviral não é capaz de eliminar a infecção, mas pode controlar a replicação viral, restaurar a imunidade e protelar a progressão da doença, proporcionando aos pacientes melhores condições e prolongando a vida dos mesmos (SLEASMAN & GOODENOW, 2003).

1.8 DIAGNÓSTICO E CLASSIFICAÇÃO DA INFECÇÃO PELO HIV-1

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV-1 em adultos e adolescentes obedece alguns critérios estabelecidos pelo *Centers for Disease Control* (CDC) (1999), como segue:

- Resultados positivos em dois testes sorológicos tipo ELISA com princípios metodológicos distintos seguidos de resultado positivo em teste sorológico de caráter confirmatório, tipo imunofluorescência indireta ou Western Blot, ou;
- Resultado positivo ou qualquer quantidade detectável em um dos seguintes testes virológicos:
 - . Detecção de ácido nucléico do HIV-1, DNA ou RNA, por metodologias baseadas em PCR;
 - . Teste para antígeno p24;
 - . Isolamento do HIV-1 por cultura viral (CDC, 1999).

Estes critérios para diagnóstico foram usados no Brasil até recentemente, quando o Ministério da Saúde em 2003, estabeleceu novos critérios para o diagnóstico da infecção pelo HIV em indivíduos acima de dois anos de idade e estão agrupados em 3 etapas:

Etapa I – Triagem Sorológica:

- Realização de um teste de imunoensaio de qualquer amostra de soro ou plasma, no entanto, este imunoensaio não poderá ser de avaliação rápida (teste rápido) e deverá ser capaz de detectar anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2;
- As amostras não reagentes terão seu resultado definido como “Amostra Negativa para HIV”;
- As amostras reagentes ou inconclusivas devem ser submetidas ao segundo imunoensaio em paralelo ao teste de Imunofluorescência Indireta (IFI) para HIV-1 ou ao teste de Immunoblot para

HIV. O segundo imunoenensaio deverá ter princípio metodológico e/ou antígenos distintos do primeiro imunoenensaio utilizado. O teste de Western Blot pode ser realizado diretamente substituindo a IFI.

Etapa II – Segundo Ensaio Confirmatório:

- Confirmação sorológica pela realização de um segundo imunoenensaio em paralelo ao teste de Imunofluorescência Indireta para o HIV-1 (IFI/HIV-1) ou ao teste de Imunoblot para HIV.

Etapa III – Confirmação por Método Blot:

- Confirmação sorológica pela realização do teste de Western Blot para HIV-1 (WB/HIV-1) (Ministério da Saúde, 2003).

O CDC revisou este sistema de classificação para adolescentes e adultos infectados pelo HIV e estabeleceu categorias levando em consideração as condições clínicas associadas com a infecção causada pelo HIV e a contagem de linfócitos T CD4+. O sistema é baseado em três ordens de contagens de linfócitos T CD4+ e três categorias clínicas, representado por uma matriz constituída de nove categorias (Tabela 1) (CDC, 1992).

TABELA I - Classificação da infecção pelo HIV, proposta pelo CDC e utilizada a partir de

Contagem de linfócito CD4	Categorias Clínicas		
	A	B	C
≥ 500 células/μL	A1	B1	C1
200 – 499 células/μL	A2	B2	C2
< 200 células/μL	A3	B3	C3

- **Categoria Clínica A:** Nesta categoria são enquadrados todos os pacientes soropositivos para o HIV-1 e que atendam uma ou mais das seguintes condições:

- . infecção assintomática;
- . linfadenopatia generalizada persistente;
- . infecção sintomática aguda (síndrome retroviral).

- **Categoria Clínica B:** Nesta categoria são enquadrados todos os pacientes sintomáticos que apresentam uma ou mais das seguintes condições:

- . candidíase orofaríngea persistente;
- . sintomas constitucionais como febre ($> 38.5^{\circ}\text{C}$) ou diarreia, por mais de 1 mês;
- . púrpura trombocitopênica idiopática;
- . listeriose;
- . neuropatia periférica.

- **Categoria Clínica C:** Os pacientes uma vez classificados nesta categoria assim se manterão. As principais condições clínicas são:

- . candidíase traqueal, bronquial ou pulmonar;
- . câncer cervical invasivo;
- . coccidioidomicose disseminada ou extra-pulmonar;
- . criptococose extra-pulmonar;
- . criptosporidiose e/ou isosporidiose intestinal crônica;
- . encefalopatia relacionada ao HIV-1;
- . sarcoma de Kaposi;
- . tuberculose pulmonar ou extra-pulmonar;
- . septicemia recorrente por *Salmonella*.

O diagnóstico de AIDS é definido para todos os pacientes da Categoria Clínica C, assim como os que são enquadrados no subtipo 3 ($\text{CD4}^+ < 200$ células/ μL) (CDC, 1992).

1.9 ANORMALIDADES METABÓLICAS E HIV

A infecção, inflamação e traumas induzem mudanças nos níveis plasmáticos de diversas proteínas (resposta de fase aguda) e essas mudanças são mediadas por citocinas (FEINGOLD; HARDARDOTTIR; GRUNFELD, 1998). Portanto, essa resposta de fase aguda alterada por citocinas pode contribuir na defesa imunológica, pois ocorre aumento na proliferação de leucócitos, na síntese de outras citocinas, imunoglobulinas, proteínas de fase aguda, destruição dos agentes infecciosos pela modulação das funções dos linfócitos T e do sistema complemento,

reparação de tecidos danificados, proteção de tecidos saudáveis e alteração indireta do substrato do metabolismo via indução na produção de citocinas (JAHOOR et al., 1999).

A resposta da célula hospedeira a alguma injúria, também resulta em alterações no metabolismo lipídico e em níveis de lipoproteínas circulantes, que também são mediadas por citocinas. As citocinas (fator de necrose tumoral, interleucinas e interferons), aumentam os níveis séricos de triglicerídeos por aumentarem a produção de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) pelo fígado. Além disso, elas podem diminuir a atividade da lipoproteína lipase, o que leva a diminuição da depuração dos triglicerídeos (GRUNFELD & FEINGOLD, 1996; FEINGOLD; HARDARDOTTIR; GRUNFELD, 1998). Essas mudanças no metabolismo lipídico podem ser entendidas como uma forma de defesa do organismo hospedeiro, pois: as lipoproteínas competem com o agente infeccioso pelos receptores celulares; as apolipoproteínas tentam neutralizar estes agentes; e as lipoproteínas podem se ligar aos agentes nocivos na tentativa de neutralizarem seus efeitos prejudiciais (FEINGOLD & GRUNFELD, 1992; FEINGOLD; HARDARDOTTIR; GRUNFELD, 1998).

A infecção causada pelo HIV induz uma resposta de fase aguda e é marcada por mudanças nas concentrações plasmáticas de proteínas e lipídios, pois há um decréscimo de colesterol, aumento de triglicerídeos e redução de HDL. Essas alterações podem estar associadas à resposta do hospedeiro e se tornam cada vez mais evidentes à medida que a contagem de linfócitos T CD4 diminuem, os quais refletem a gravidade e a progressão da doença. Alguns pacientes que fazem uso de inibidores de protease podem desenvolver lipodistrofia com obesidade central, resistência à insulina, intolerância à glicose e às vezes diabetes (DUCOBU & PAYEN, 2000).

Com os avanços no emprego da terapia antirretroviral, principalmente com o uso da terapia altamente ativa para pacientes com a doença da síndrome da imunodeficiência humana, os pacientes estão vivendo mais tempo e as doenças cardiovasculares têm se tornado mais freqüentes nessa população. Estas alterações no metabolismo lipídico, caracterizadas pela lipodistrofia e dislipidemia, podem contribuir para o desenvolvimento de aterosclerose (KRISHNASWAMY et al., 2000).

1.10 METABOLISMO DOS LIPÍDEOS

As enfermidades do coração, sobretudo àquelas denominadas de enfermidades cardíacas degenerativas, estão associadas à elevação dos níveis plasmáticos de lipídeos e, em geral, não têm cura. São graves e incapacitantes na sua fase final, levando a diminuição da qualidade e do tempo de vida (NEVES, 1997; NISHINO et al., 2000). O principal processo anatomopatológico que conduz a doenças cardiovasculares é a aterosclerose, condição que evolui lesão arterial, a qual pode provocar cardiopatia isquêmica, infarto do miocárdio e acidentes vasculares (LEESON et al., 2000). Para entender o papel da hiperlipidemia nas doenças cardiovasculares, faz-se necessário dar visibilidade aos pressupostos teóricos envolvidos no metabolismo do colesterol e das lipoproteínas.

Os lipídeos formam um grupo de compostos que são muito importantes para a manutenção da vida. O conjunto dos lipídeos é bastante heterogêneo, sendo de importância para os seres humanos os ácidos graxos, os triglicerídeos, os fosfolípidios e o colesterol. O colesterol está presente nas lipoproteínas plasmáticas e em todas as células de eucariontes, desempenhando papel indispensável na regulação da permeabilidade da membrana plasmática das células (SIMONS & IKONEN, 2000).

O colesterol pode ser sintetizado por todas as células do organismo humano a partir da acetil-coenzima A (acetil-CoA) no retículo endoplasmático ou ser captado pelas células através das lipoproteínas. Os níveis plasmáticos de colesterol são regulados através de um mecanismo que evolui sua esterificação, controlando a transcrição gênica envolvida na sua síntese e na expressão de receptores celulares para lipoproteínas. Assim, a enzima colesterol acil transferase (ACAT) catalisa a conversão de colesterol em éster de colesterol no interior celular, processo necessário para o armazenamento do colesterol e para proteção da própria célula, já que o colesterol é tóxico (BUHMAN; ACCAD; FARESE Jr., 2000).

Os lipídeos são compostos insolúveis no meio aquoso e para o seu transporte pelo organismo precisam estar complexados com moléculas hidrofílicas, como as lipoproteínas, que são agregados moleculares constituídos de componentes altamente hidrofóbicos em seu interior, como: ésteres de colesterol, triglicerídeos, além de vitaminas lipossolúveis; e moléculas periféricas menos hidrofóbicas que as anteriores, como: fosfolipídeos e colesterol não

esterificado, além de proteínas (Apolipoproteínas ou Apoproteínas – Apo-LP) (SIMONS & IKONEN, 2000; SANTOS et al., 2001).

As LP são definidas como a unidade funcional de transporte de lipídeos no plasma e têm a função de suprir os tecidos com lipídeos provenientes da dieta ou sintetizados pelo organismo. As Apo-LP contribuem para a regulação do metabolismo das lipoproteínas através da modulação da atividade de enzimas, direcionando as lipoproteínas aos locais de catabolismo e interagindo com receptores específicos e de alta afinidade (SANTOS et al., 2001).

As lipoproteínas diferem entre si, quanto à composição, ao tamanho e à mobilidade eletroforética, porém, a densidade é a propriedade física na qual se baseia a atual classificação e o método de ultracentrifugação preparativa é empregado para isolar seis principais classes de lipoproteínas: quilomícrons (QM), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL – Very Low Density Lipoprotein), lipoproteína de densidade intermediária (IDL – Intermediate Density Lipoprotein), lipoproteína de baixa densidade (LDL – Low Density Lipoprotein) e lipoproteína de alta densidade (HDL – High Density Lipoprotein) tipos 2 e 3 (SANTOS et al., 2001).

O metabolismo das lipoproteínas pode ser dividido para fins de estudo em três sistemas principais: I – transporte de lipídeos de origem dietética (transporte exógeno); II – transporte de lipídeos de origem hepática (transporte endógeno) e III – transporte reverso de colesterol.

1.10.1 TRANSPORTE DE LIPÍDEOS DE ORIGEM EXÓGENA

Inicia-se no intestino com a digestão de triglicerídeos (resultando na produção e absorção de ácidos graxos e glicerol) e a absorção direta de colesterol (LU; LEE; PATEL, 2001). Os triglicerídeos e o colesterol da dieta são incorporados aos quilomícrons nas células epiteliais intestinais. Os quilomícrons alcançam os capilares periféricos, via vasos linfáticos intestinais, para serem hidrolisados pela lipase lipoproteína endotelial, liberando ácidos graxos no tecido adiposo e músculo. Os resquícios dos quilomícrons remanescentes, ricos em colesterol, são captados pelo fígado por intermédio de receptores que atuam como mediadores da endocitose (apo E e apo B-100), enquanto os ésteres de colesterol e os trigliceróis são metabolizados. Assim, os quilomícrons transportam o colesterol exógeno para o fígado e os triglicerídeos para o tecido adiposo. Após captação dos quilomícrons remanescentes, pelos hepatócitos, segue-se o catabolismo intracelular das lipoproteínas plasmáticas com liberação de ácidos graxos, glicerol,

aminoácidos e hidrólise de éster de colesterol. O colesterol pode ser reesterificado para armazenamento, utilizado na regulação da síntese do colesterol no hepatócito, excretado na forma de colesterol livre ou ser metabolizado em ácidos biliares, sendo que estas duas últimas formas podem ser reabsorvidas em porções distintas do intestino (GREEVENBROEK & BRUIN, 1998; ST-PIERRE et al., 2001).

1.10.2 TRANSPORTE DE LIPÍDEOS DE ORIGEM ENDÓGENA

Na via endógena, a VLDL contendo triglicerídeos e três apoproteínas (E, C e B100), é secretada pelo fígado e transportada para o tecido adiposo e músculo, onde ocorre uma seqüência de eventos que transforma a VLDL, via formação da IDL, em LDL. O núcleo da IDL é composto quase que exclusivamente de éster de colesterol e a camada externa de apenas uma apoproteína, a B100 (LISCUM & MUNN, 1999). Dois terços da LDL resultantes são metabolizados pelas células hepáticas e outras células em tecidos extra-hepáticos (células adrenais, fibroblastos, células musculares lisas, células linfóides, células endoteliais) através de receptores da LDL. Essa via constitui o meio pelo qual as células não-hepáticas controlam o colesterol necessário para a síntese das membranas (GREEVENBROEK & BRUIN, 1998). Na presença de baixas concentrações de LDL extracelulares, são elaborados mais receptores e vice-versa. O receptor da LDL liga-se à apoproteína B e E. O terço restante da LDL é degradado por mecanismo independente do receptor de LDL, como as células do sistema fagocitário mononuclear, endocitose líquida e adsortiva não mediada por receptores em diversas células. O colesterol, não esterificado, oriundo da renovação normal das membranas celulares, é transportado pela HDL para o plasma. Através da ação da enzima plasmática lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT), o colesterol da HDL é transferido a IDL e, eventualmente, a LDL (LISCUM & MUNN, 1999).

1.10.3 TRANSPORTE REVERSO DE COLESTEROL

O transporte reverso do colesterol (TRC) é o processo pelo qual o colesterol é transportado dos tecidos extra-hepáticos para o fígado e intestino para ser excretado. O TRC também regula a formação, a conversão, a transformação e a degradação da HDL. A HDL é a principal classe de lipoproteína envolvida no mecanismo do TRC, por essa razão ela tem um papel importante na

prevenção da formação das placas ateroscleróticas (OHASHI et al., 2005). Além de estar envolvida no TRC e na proteção da função endotelial, a HDL também possui a capacidade antioxidante, antiinflamatória e antitrombótica (BARTER et al., 2003).

O fígado é o principal local de formação da HDL, onde secreta apoproteína A-1 e esta associa-se a fosfolípidios e forma a HDL nascente (pré β -HDL) no plasma. Esta forma de HDL remove o colesterol livre e fosfolípidos de tecidos periféricos (VON ECKARDSTEIN et al., 2001), isso ocorre via transportador *adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette A1 (ABCA1)* que transfere colesterol livre e fosfolípido. Após esse efluxo, a HDL nascente transforma-se em partículas esféricas, remodeladas por ação da enzima LCAT (*lecithin-cholesterol acyltransferase*), no plasma. A LCAT é uma enzima interfacial que participa da captação e transferência de colesterol livre da membrana celular extra-hepática, quilomícrons e VLDL para as partículas de HDL pequenas. A formação e o acúmulo de éster de colesterol no núcleo da HDL não somente remove colesterol de sua superfície promovendo um fluxo de colesterol para o seu interior, como também gera mudanças morfológicas na partícula, que aumenta de tamanho e torna-se esférica (STEIN & STEIN, 1999; SANTOS et al., 2001).

A enzima LCAT é secretada pelos hepatócitos e liberada no plasma em associação reversível com lipoproteínas. No sangue, a LCAT encontra-se preferencialmente ligada a HDL, é ativada por seu maior componente protéico, a Apo A-I, catalisando a reação de trans-esterificação que converte colesterol livre em éster de colesterol (JONAS, 2000).

Como o aumento do conteúdo de éster de colesterol, a HDL recebe a denominação de HDL₂ que transfere éster de colesterol para outras lipoproteínas (quilomícrons, IDL, LDL e principalmente VLDL) em troca de triglicerídeos promovendo aumento da captação dessas pelo fígado, essa transferência é mediada pela proteína de transferência de éster de colesterol (*CETP – cholesterol ester transfer protein*) (RADER, 1999). A CETP é sintetizada pelo fígado, baço, intestino grosso, tecido adiposo, glândulas adrenais, rins, coração e musculatura esquelética, podendo ser secretada por vários tipos celulares, incluindo macrófagos, linfócitos B, adipócitos e hepatócitos (YAMASHITA et al., 2000).

A IDL e a LDL são catabolisadas via receptor hepático de LDL. Além disso, metade do colesterol esterificado da HDL é levado seletivamente para o fígado via receptores específicos denominados *scavenger receptor class B type I (SR-BI)*. A HDL₂ enriquecida com triglicerídeos é convertida em HDL₃ após hidrólise e remoção de triglicerídeos por ação da lipase lipoprotéica

de origem hepática (LLH) localizada no endotélio dos capilares hepáticos (YAMASHITA et al., 2000).

A HDL liga-se aos receptores SR-BI com alta afinidade, liberando seletivamente apenas éster de colesterol, através de um mecanismo distinto do caminho clássico dos receptores da LDL, via endocitose (MINGPENG & ZONGLI, 1999). A HDL₃ originada pode retornar aos tecidos extra-hepáticos, reiniciando o ciclo de captação do colesterol (HUI et al., 1981).

Outro mecanismo pelo qual a HDL recebe colesterol livre e fosfolípide de LDL, hidrólise mediada pela lipoproteína lipase (LPL), um processo facilitado *pela phospholipids transfer protein* (PLTP). A PLTP é uma glicoproteína plasmática parcialmente associada a HDL e tem a função de mediar a transferência de fosfolípidos da LDL para HDL. Portanto, a ligação entre HDL e LDL é caracterizada pela troca de colesterol éster, fosfolípide e triglicérides mediada pela CETP e PLTP (WANG & BRIGGS, 2004).

A apoA-1 resultante da degradação é recebida para nova formação de HDL e a degradação da HDL envolve a lipase hepática (LH) que hidrolisa os triglicérides nas partículas de HDL. Outra lipase localizada na superfície endotelial é a lipase endotelial (LE), capaz de regular os níveis e a função da HDL, por hidrolisar fosfolípidos sobre a HDL (WANG & BRIGGS, 2004).

Uma vez no fígado, o colesterol proveniente dos tecidos pode participar de outras vias metabólicas como re-empacotamento em lipoproteínas e posteriormente secretado para o plasma ou ser excretado para a bile através dos ácidos biliares (principal via de eliminação) (SANTOS et al., 2001).

As trocas lipídicas entre as lipoproteínas são importantes para remover o excesso de colesterol da periferia para a disposição metabólica ou no processo de reciclagem para a composição, tamanho e níveis de HDL, regenerando a função da mesma no TRC (WANG & BRIGGS, 2004).

Além de sua importante função no transporte reverso do colesterol, as partículas de HDL também possuem outras propriedades como: efeito antiinflamatório, antitrombótico e antioxidante (BARTER et al., 2003; CHOI et al., 2006). Esta última se deve pela capacidade da HDL em inibir a oxidação das partículas de LDL por conter enzimas antioxidantes, entre elas a paraoxonase, a qual está associada à HDL (CHOI et al., 2006).

1.11 PARAOXONASE

Algumas hipóteses sugerem que infecções, inflamação e as altas concentrações de colesterol podem ser a causa central no desenvolvimento da aterosclerose. Uma dessas hipóteses é a modificação de lipoproteínas, principalmente a LDL, principal carreadora de colesterol para o interior da parede das artérias. Essa modificação pode se dar através do processo de oxidação por agentes, tais como ânions superóxido, óxido nítrico e peróxido de hidrogênio, transformando-se em LDL oxidada (oxi-LDL) (STEINER, 2000; KÁDAR & GLASZ, 2001).

As oxi-LDLs depositam-se na camada íntima arterial, sendo capazes de provocar citotoxicidade no endotélio vascular e se acumulam na parede do vaso. Posteriormente, os monócitos aderem ao local, migram para a camada íntima e se transformam em macrófagos e estes fagocitam as partículas de LDL oxidadas, originando o acúmulo de vesículas citosólicas (contendo éster de colesterol) no seu interior formando as “*foam cells*” que se acumulam na camada íntima, liberam agentes quimiotáticos capazes de aumentar o recrutamento das LDLs plasmáticas e fatores de crescimento, que levam a migração e proliferação das células musculares lisas, formando a placa ateromatosa (BUHMANN et al., 2000; FILHO, 2000).

Os efeitos biológicos oxidativos dos radicais livres, espécies reativas de oxigênio (EROs), sobre os lipídeos, proteínas e DNA são controlados pela ação de alguns antioxidantes. Os antioxidantes podem inibir a aterogênese e preservar a função vascular por diferentes mecanismos. Existe um sistema enzimático capaz de neutralizar os produtos das EROs, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) e a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD). Dentre estes sistemas enzimáticos antioxidantes encontra-se também a paraoxonase (PON1) (SERDAR et al., 2006).

A PON1 é uma glicoproteína de 355 aminoácidos, a qual é sintetizada no fígado e liberada no sangue, onde se associa com a HDL. É membro de uma família de três genes consistindo em PON1, PON2 e PON3 localizada no cromossoma 7 humano. As paraoxonases são hidrolases com um dos maiores substratos específicos conhecido, sendo a PON1 a primeira das proteínas a ser identificada e tem sido amplamente estudada (DEAKIN & JAMES, 2004). A PON1 recebeu esta denominação em decorrência do paraoxon, um metabólito tóxico do inseticida paration, que é um dos maiores substratos estudados, pois a PON1 hidrolisa os metabólitos ativos produzidos por ele (COSTA et al., 2005).

Uma função fisiológica da PON1 parece estar relacionada com o metabolismo tóxico de lipídeos oxidados de partículas de LDL e HDL. A PON1 previne a formação de LDL oxidada, inativa fosfolipídeos oxidados derivados da LDL oxidada e também protege fosfolipídeos da HDL de oxidação. Estas ações sugerem que a PON1 pode contribuir para a prevenção de doenças cardiovasculares, entre elas a aterosclerose. A atividade da PON1 pode ser modulada por alguns fatores, como exposição a substâncias químicas, drogas, cigarro, álcool, hábitos alimentares, idade, origem étnica e doenças prévias. Essas condições podem causar polimorfismo molecular da PON1, proporcionando mutações e alterações na atividade da mesma (COSTA et al., 2005).

1.12 HIV E *HIGHLY ACTIVE ANTIRETROVIRAL THERAPY* (HAART)

Com o advento da *highly active antiretroviral therapy* (HAART), conhecida como terapia antirretroviral altamente ativa, observou-se um profundo impacto na história natural da infecção pelo HIV. Desta forma, o emprego de combinações terapêuticas contendo drogas da classe dos Inibidores de Protease (IP), promoveu uma importante e sustentada supressão na replicação viral, elevando a sobrevida e a qualidade de vida dos pacientes soropositivos. No entanto, os benefícios do uso de IP são acompanhados por inúmeros efeitos colaterais decorrentes destes medicamentos, principalmente alterações metabólicas. Dentre estas destacam-se dislipidemia, resistência à insulina e distribuição anormal da gordura corporal, reconhecidos fatores de risco para doenças cardiovasculares (YU et al., 2005; VALENTE et al., 2005; FUNK; BRESSLER; BRISSETT, 2006).

A lipodistrofia do HIV caracteriza-se pela distribuição anormal da gordura corporal em pacientes soropositivos, e apesar de fortemente associada ao uso de IPs, alguns inibidores de transcriptase reversa nucleosídeos (NRTIs), também podem estar associados com sua gênese (VALENTE et al., 2005).

A lipodistrofia pode ser classificada clinicamente em 3 categorias: (1) – lipoatrofia: caracterizada pela redução da gordura em regiões periféricas como braços, pernas, face e nádegas, podendo apresentar proeminência muscular e venosa relativas; (2) – lipohipertrofia: caracterizada pelo acúmulo de gordura em regiões abdominal, presença de glibosidade dorsal, ginecomastia e aumento das mamas em mulheres; (3) – forma mista: caracterizada pela

associação de componentes das duas formas anteriormente descritas (THIÉBAUT; DAUCOURT; MERCIÉ, 2000; VALENTE et al., 2005).

Os distúrbios lipídicos associados à HAART aumentam os riscos para doenças cardiovasculares, especialmente aterosclerose. O endotélio vascular é exposto constantemente a agentes nocivos circulantes como colesterol e no caso dos pacientes soropositivos, partículas virais. As células endoteliais geram resposta inflamatória contra esses agentes. A inflamação causa mudanças no endotélio vascular e ocorre expressão de moléculas de adesão atraindo leucócitos e facilitando a agregação plaquetária (SUDANO et al., 2006).

A elevação dos níveis de LDL plasmática pode aumentar a velocidade de sua adesão na parede arterial e deposição na camada íntima arterial (KÁDAR & GLASZ, 2001). O resultado destes eventos é a formação de uma placa ateromatosa, composta de uma cobertura fibrosa com células musculares lisas, macrófagos, células esponjosas, linfócitos, colágeno, elastina, proteoglicanos e de um centro necrótico composto de restos celulares, cristais de colesterol, células esponjosas e cálcio (KUMMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005).

À medida que as placas aumentam de tamanho, progressivamente invadem a luz do vaso, levando ao comprometimento do fluxo sanguíneo, enfraquecimento das artérias e uma variedade de complicações como calcificação, ulceração, formação de trombos e outros distúrbios (KÁDAR & GLASZ, 2001).

As doenças cardiovasculares, decorrentes principalmente da aterosclerose, haja vista o espessamento da artéria e conseqüentemente o comprometimento do lúmen vascular, estão associadas aos níveis plasmáticos das lipoproteínas. Estudos *in vivo* e *in vitro* têm avaliado o metabolismo das partículas lipoprotéicas marcadas radioativamente utilizando nanoemulsões sintéticas (OLIVEIRA & QUINTÃO, 1996).

1.13 “LIPOPROTEÍNAS ARTIFICIAIS”

Em 1985, REDGRAVE & MARANHÃO, reproduziram o metabolismo dos quilomícrons pelo desenvolvimento de um sistema de nanoemulsões artificiais ricas em triglicérides e em 1987, iniciaram estudos que visavam reproduzir o metabolismo da LDL através de uma nanoemulsão rica em colesterol (LDE) (MARANHÃO et al., 1993). Nesse mesmo estudo demonstraram que essa microemulsão lipídica com composição semelhante à fase lipídica da

LDL humana, constituída de aproximadamente 66% de fosfolípide, 33% de colesterol éster e 1% de triglicérides, sem a parte protéica da lipoproteína (HIRATA, 1991), ligava-se aos receptores de LDL (rLDL), sendo captada pelas células. O objetivo inicial deste estudo era a avaliação do uso de LDE como ferramenta de investigação da hipercolesterolemia relacionada a aterosclerose. Surpreendentemente, os resultados obtidos em ratos mostraram que a LDE apresentava resposta metabólica semelhante à da LDL natural, sugerindo que estivesse sendo captada pelos mesmos receptores que retiram a LDL da circulação.

Apesar da LDE não possuir proteína, ao ser injetada na circulação plasmática, entra em contato com as lipoproteínas naturais, adquire a apo E, que pode ser reconhecida pelo receptor da LDL. Assim, a apo E serve como ponte para a LDE ligar-se ao receptor, sendo captada pela célula (MARANHÃO et al., 1993).

Foram realizados diversos experimentos com a LDE e foi demonstrado que a remoção plasmática da LDE é maior em pacientes portadores de leucemia mieloide aguda (MARANHÃO et al., 1994). As células leucêmicas apresentam aumento de expressão dos receptores da LDL, de tal forma que retiram avidamente a lipoproteína da circulação. Após tratamento bem sucedido, com a remissão da doença, ou seja, o desaparecimento das células leucêmicas, a remoção da LDE normaliza-se, confirmando de fato que, era o maior número de receptores da LDL presentes nas células leucêmicas, responsável pela remoção acelerada da LDE. Em trabalho subsequente, estudos de competição em linfócitos mostraram que a LDL natural compete com a LDE pela captação celular e sugerem que a remoção de ambas ocorre pelo mesmo receptor específico (MARANHÃO et al., 1997). Em outros estudos, a LDE foi injetada em indivíduos normolipidêmicos e em portadores de hipercolesterolemia (MARANHÃO et al., 1997). Nestes pacientes, a LDE foi removida muito lentamente da circulação, o que mostrou o potencial da nanoemulsão como instrumento para a investigação das dislipidemias. Outro trabalho realizado com idosos, que possuem concentrações aumentadas de LDL, a remoção da LDE foi mais lenta neste grupo quando comparados aos jovens (PINTO et al., 2001). Na Beta-Talassemia, onde ocorre uma diminuição da concentração de LDL, os estudos demonstram que estes pacientes removiam a LDE da circulação mais rapidamente quando comparados com indivíduos sem a doença (NAOUM et al., 2004). Em pacientes submetidos a transplante cardíaco, demonstraram que a remoção da LDE da circulação ocorreu mais lentamente quando comparado com controles, sugerindo a presença de um mecanismo deficiente de remoção da LDL, que deve ser uma das

causas da hipercolesterolemia, encontrada com frequência nesses pacientes (PUK et al., 2004; PUK, 2006).

Esses resultados mostram a utilidade desta nanoemulsão como um modelo de estudo para explorar o metabolismo da LDL, utilizando a LDE como “doadora” de lipídios, com o intuito de investigar a capacidade da HDL de receber lipídios (colesterol livre, colesterol éster, triglicérides e fosfolípide) da LDL e, com isso, avaliar qualitativamente a HDL (PUK, 2006).

2 JUSTIFICATIVA

Os pacientes HIV soropositivos, na fase inicial da infecção podem apresentar distúrbios metabólicos/lipídicos. Essas alterações, nos pacientes com a doença (AIDS) são freqüentes e podem comprometer a resposta imunológica do organismo, principalmente nos pacientes que já desenvolveram a doença.

O uso de terapia antirretroviral deve reduzir a replicação viral a níveis indetectáveis melhorando a qualidade de vida desses pacientes, bem como propiciando, aos mesmos, uma sobrevida maior.

Os distúrbios lipídicos decorrentes da infecção pelo HIV, associados aos efeitos colaterais da terapia antirretroviral, aumentam os riscos para doenças cardiovasculares, especialmente aterosclerose que, caracteriza-se pela alteração no endotélio vascular que induz ao acúmulo de lipídeos e com a persistência dos estímulos poderá levar à obstrução vascular, impedindo a circulação sanguínea.

Uma das hipóteses para o desenvolvimento da aterosclerose é principalmente a oxidação de partículas de LDL, as quais poderiam sofrer ação da paraoxonase que parece estar relacionada com o metabolismo tóxico de lipídeos oxidados, pois bloquearia o acúmulo de peróxidos de lipídeos nas LDL prevenindo a oxidação da LDL, constituindo um dos componentes importantes na prevenção da aterosclerose.

Neste contexto, a avaliação do nível de transferência de lipídeos da LDE para a HDL e a atividade da paraoxonase em relação à oxidação da LDL, pode ser importante para controlar os distúrbios lipídicos e a formação de aterosclerose nos pacientes HIV soropositivos ou com AIDS, já que estes são os principais fatores predisponentes para doenças cardiovasculares.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o processo de transferência plasmática de lipídeos da LDE para a HDL e a atividade da enzima paraoxonase em pacientes HIV soropositivos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar nos dois grupos, pacientes HIV soropositivos e indivíduos-controle, os seguintes parâmetros, através de estudos “in vitro”.

- Transferência do colesterol livre da LDE para a HDL;
- Transferência do colesterol éster da LDE para a HDL;
- Transferência dos triglicérides da LDE para a HDL;
- Transferência dos fosfolípides da LDE para a HDL;
- Medida da atividade da enzima paraoxonase;
- Verificar se há correlação entre os parâmetros acima e os valores de lipídes, glicose, carga viral, contagem de linfócitos T CD4, CD8 e IMC determinados nos pacientes.

4 METODOLOGIA

4.1 CASUÍSTICA

O presente trabalho teve o projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, conforme consta do processo N° 210/2005, cujo parecer encontra-se em anexo (Anexo n° 1).

Participaram deste estudo 48 voluntários comprovadamente soropositivos para o HIV, diagnosticados por dois testes sorológicos tipo ELISA, com princípios metodológicos distintos e confirmados por imunofluorescência indireta, com indicação para o início ou não da terapia antirretroviral, conforme orientações do Ministério da Saúde. Dos pacientes que participaram deste estudo 23 usavam terapia antirretroviral, sendo que, destes 12 usavam NRTI e NNRTI, 9 NRTI e IP e 25 pacientes não usavam terapia antirretroviral. A comparação estatística entre esses grupos pelo teste t Student não apresentou diferença significativa.

Neste estudo participaram ainda 45 voluntários comprovadamente soronegativos para o HIV, encaminhados pelo Setor de Triagem de Doenças Infecciosas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, constituindo o grupo controle.

Após terem sido devidamente esclarecidos sobre os objetivos da pesquisa e de que os resultados seriam tornados públicos, quaisquer fossem os mesmos, todos os voluntários consentiram em participar da pesquisa. Nenhum dos voluntários, bem como quaisquer dos membros da equipe de pesquisa tiveram benefícios financeiros decorrentes de sua realização.

Após triagem clínica realizada por médicos infectologistas do ambulatório do Hospital Universitário, os pacientes devidamente esclarecidos e que aceitaram participar da pesquisa mediante assinatura do termo de consentimento (Anexo n° 2), foram encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, para a coleta de material biológico para as determinações laboratoriais.

Dos 48 pacientes HIV soropositivos 26 eram mulheres e 22 homens. Dos 45 pacientes HIV soronegativos 29 eram mulheres e 16 homens.(Tratados ou não tratados)

As amostras de sangue destes voluntários foram colhidas por venopunção antero-cubital, após jejum de 12 a 14 horas, utilizando-se o sistema de coleta a vácuo. Foram coletados, aproximadamente 4 ml de sangue em tubos contendo EDTA (2mg/ml) para a realização dos seguintes exames: contagem de linfócitos CD4 (Anexo nº 3), linfócitos T CD8 (Anexo nº 3) e determinação de carga viral (Anexo nº 3). Foram coletados ainda, aproximadamente 8 ml de sangue em tubos sem anticoagulante, para avaliação dos níveis plasmáticos de paraoxonase sérica, glicose, colesterol total, triglicérides, HDL, LDL e VLDL.

As determinações de transferência lipídica e a enzima paraoxonase foram realizadas no Laboratório de Metabolismo de Lípidos do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

4.2 CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4 E T CD8

A contagem de linfócitos T CD4 e T CD8 foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário – Universidade Federal de Santa Catarina.

A contagem de linfócitos T CD4 e T CD8 foi realizada através de citômetro de fluxo modelo FACSCalibur™ (*Becton Dickinson*, USA), em amostras de sangue total, utilizando o conjunto reativo com anticorpos monoclonais anti CD4/CD3 e anti CD8/CD3 (*Becton Dickinson*, *San Jose, C.A.*, USA).

Os valores de referência assumidos para a contagem de linfócitos CD4 e CD8 foram os seguintes:

CD4: 500 a 1500 células/mm³

CD8: 300 a 1000 células/mm³

A relação CD4/CD8 foi obtida pela divisão do número de linfócitos CD4 pelo número de linfócitos CD8. Para calibração do sistema foram utilizados os conjuntos FACSCalibur™ Control (*Becton Dickinson*), que contém os controles: zero, baixo, médio e alto.

4.3 QUANTIFICAÇÃO DO RNA DO HIV

A quantificação do RNA viral (Carga Viral) foi realizado por metodologia NASBA (*Nucleic Acid Sequence-based Amplification*) através do teste NucliSens HIV-1 QT, Organon Teknika BV (*Boxtel, Netherland*), onde o DNA é extraído, amplificado e quantificado por eletroquimiluminescência.

As determinações foram realizadas a partir de sangue total coletado em tubo contendo EDTA, este foi centrifugado a 378g por 10 minutos para obtenção do plasma.

O NucliSens HIV-1 QT compreende quatro conjuntos reativos distintos, sendo um para cada fase de execução do teste:

1. *NucliSens Lysis Buffer*, utilizando para a liberação dos ácidos nucléicos;
2. NucliSens HIV QT, para isolamento dos ácidos nucléicos;
3. NucliSens HIV QT, para amplificação dos ácidos nucléicos;
4. NucliSens HIV QT, para detecção dos ácidos nucléicos.

O teste NucliSens HIV-1 QT consiste das seguintes etapas:

- **Liberação dos ácidos nucléicos:** 1 ml do plasma obtido foi adicionado ao tampão de lise (Tiocianato de guanidina) para liberação dos ácidos nucléicos e posterior determinação. Esta etapa tem por finalidade a desintegração das partículas virais e células, bem como a inativação das RNases e DNases presentes na amostra.

- **Isolamento dos ácidos nucléicos:** aos ácidos nucléicos liberados no tampão de lise, são adicionados três RNAs sintéticos de concentração conhecida (Qa, Qb e Qc), alta, média e baixa, respectivamente, que servem como calibradores internos. Cada um desses RNAs difere do RNA do HIV presente na amostra em apenas uma seqüência de pares de bases. Em meio de elevada concentração salina os ácidos nucléicos presentes no tampão, incluindo-se os calibradores, ligam-se às partículas de dióxido de silício que funcionam como base sólida. Em seguida os ácidos nucléicos são eluídos da fase sólida utilizando-se tampão de eluição.

- **Amplificação:** o RNA do HIV-1 presente no eluído é amplificado juntamente com os calibradores internos. Cada cópia formada entra em um novo ciclo de amplificação, sendo que esta metodologia não requer a separação das cadeias, tornando o processo isotérmico e contínuo.

- **Detecção:** a detecção e quantificação do RNA do HIV-1 presente na amostra se baseia no princípio de eletroquimiluminescência, utilizando o leitor NucliSens Reader. Aliquotas da amostra são adicionadas a quatro soluções de hibridização específicas (WT, Qa, Qb e Qc). Os RNAs são hibridizados com esferas-oligo (um oligo ligado a esferas revestidas com estreptavidina) e uma sonda marcada com rutênio. As esferas paramagnéticas ligadas ao complexo RNA/sonda são capturadas à superfície de um eletrodo por meio de um campo magnético. A voltagem aplicada ao eletrodo desencadeia a reação de eletroquimiluminescência, sendo que a luz emitida pelas sondas marcadas com rutênio é proporcional à quantidade de RNA viral amplificado.

4.4 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE GLICOSE

Os níveis séricos de glicose foram determinados por espectrofotometria, utilizando conjuntos reativos **Dimension**[®] *clinical chemistry system* (Dade Behring Inc., Newark, USA.), no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário – UFSC.

Os valores de referência para este analito são:

70 – 110 mg/dl.

4.5 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE COLESTEROL TOTAL

Os níveis séricos de colesterol total foram determinados por espectrofotometria, utilizando conjuntos reativos **Dimension**[®] *clinical chemistry system* (Dade Behring Inc., Newark, USA.), no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário – UFSC.

Os valores de referência para este analito são:

< 200 mg/dl [5.2 mmol/l] - Desejável

200 – 240 mg/dl [5.2 – 6.2 mmol/l] - Limítrofes

> 240 mg/dl [6.2 mmol/l] - Alto risco

4.6 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE TRIGLICERÍDEOS

Os níveis séricos de colesterol total foram determinados por espectrofotometria, utilizando conjuntos reativos **Dimension**[®] *clinical chemistry system* (Dade Behring Inc., Newark, USA.), no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário – UFSC.

Os valores de referência para este analito são:

< 150 mg/dl [1.70 mmol/l] - Normal

150 – 199 mg/dl [1.70 – 2.25 mmol/l] - Acima da média

200 – 499 mg/dl [2.26 – 5.64 mmol/l] - Alto

≥ 500 mg/dl [≥ 5.65 mmol/l] - Muito alto.

4.7 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE HDL-COLESTEROL

Os níveis séricos de HDL-colesterol foram determinados por espectrofotometria, utilizando conjuntos reativos **Dimension**[®] *clinical chemistry system* (Dade Behring Inc., Newark, USA.), no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário – UFSC.

Os valores de referência para este analito são:

< 40 mg/dl [1.04 mmol/l] - Baixo

≥ 60 mg/dl [1.55 mmol/l] - Alto

4.8 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE LDL-COLESTEROL

Os níveis séricos de LDL-colesterol foram calculados pela fórmula de Friedewald: $LDL = \text{Colesterol Total} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$ (FRIEDEWALD, 1972).

Os valores de referência para este analito são:

- < 100 mg/dl - ótimo
- 100 – 129 - próximo de ótimo
- 130 – 159 - levemente alto
- 160 – 189 - alto
- > 190 - muito alto.

4.9 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE VLDL-COLESTEROL

Os níveis séricos de LDL-colesterol foram determinados através de cálculos a partir das determinações anteriores conforme a fórmula de Friedewald: $VLDL = \text{Triglicérides}/5$ (FRIEDEWALD, LEVY, FREDICKSON, 1972).

O valor de referência para este analito é:

- > 40 mg/dl - Desejável

4.10 PREPARO DA LDE

A LDE foi preparada segundo a técnica descrita por Ginsburg et al. (1982) e modificada por Maranhão et al. (1993). Em um frasco, foram pipetados 40 mg de fosfatidilcolina, 20 mg de éster de colesterol, 1,0 mg de trioleína e 0,5 mg de colesterol, diluídos em clorofórmio/metanol (2:1). Posteriormente, foram adicionados 70 kBq de ^3H -colesterol éster e 70 kBq de ^{14}C -fosfatidilcolina ou 70 kBq de ^3H -triglicérides e 70 kBq de ^{14}C -colesterol. Em seguida, a mistura foi secada sob fluxo de nitrogênio, em banho-maria 37°C e mantida em dessecador a vácuo, por 16 horas, a 4°C, para remoção dos solventes residuais. A mistura de lipídios ressuspensa com tampão-tris HCl foi emulsificada por irradiação ultrasônica de 125 watts de potência durante 3 horas, sob uma atmosfera de nitrogênio, com temperatura variando de 51 a 55°C. Em seguida, a nanoemulsão foi purificada por duas etapas de ultracentrifugação e esterilizada através de passagem em filtro Millipore® 0,22 µm de diâmetro.

O processo de preparo das nanoemulsões foi realizado em capela de fluxo laminar. Todo o material utilizado foi esterilizado em autoclave, 120°C e despirogenizado em estufa 180°C durante 90 minutos.

4.11 TRANSFERÊNCIA DE COLESTEROL LIVRE, COLESTEROL ÉSTER, TRIGLICÉRIDES E FOSFOLÍPIDES DA LDE PARA A HDL.

Amostras dos pacientes foram coletadas, após jejum de 12 horas, em EDTA (1,5 g/L) e o plasma foi obtido após 10 minutos de centrifugação, a 3.000 rpm, em centrífuga Solval RT7. Foi incubado 50 μ L da LDE marcada radiativamente com ^3H -colesterol éster (^3H -CE) e ^{14}C -fosfatidilcolina (^{14}C - PL) ou ^3H -triglicérides (^3H -TG) e ^{14}C -colesterol livre (^{14}C -CL) com 200 μ L de plasma por 60 minutos, a 37°C, em agitador orbital Gyromax 706R, sob agitação de 40 rpm. Após incubação, foram adicionados à mistura 250 μ L de reagente de precipitação de lipoproteínas contendo apo B (sulfato de dextran 0,2%/MgCl₂ 3M, v/v). A mistura foi agitada em vortex por 30 segundos e posteriormente centrifugada por 10 minutos a 3.000 rpm. A fração HDL foi obtida após precipitação da nanoemulsão juntamente com as lipoproteínas contendo apo B, com 250 μ L de dextran/ MgCl₂ (0,2% Dextran e 0,3 mol/L MgCl₂). Aliquotas de 250 μ L do sobrenadante, contendo a HDL foram pipetadas em frascos de cintilação. Foram acrescentados a esses frascos, 5,0 mL de solução cintiladora Ultima Gold (Perdinermer, Boston, USA) e, finalmente, a radioatividade presente nas amostras foi quantificada em contador Beta (Liquid Scintillation Analyzer, Packard 1600 TR, Palo Alto, CA) com a utilização do software Plus Vers. 5.01 da Diamond Computers, para determinação das contagens de ^{14}C e ^3H das amostras. O branco para este experimento consiste da mistura de 200 μ L de solução tampão TRIS-HCl e 50 μ L de LDE, incubada e precipitada nas mesmas condições descritas acima. O valor de radioatividade total presente na amostra foi determinada pela incubação de 200 μ L de plasma com 50 μ L de LDE, seguida de incubação, porém sem adição de reagente de precipitação. A quantificação dos lipídios transferidos da LDE para HDL plasmática foi expressa como porcentagem (%) em relação à radioatividade total incubada.

4.12 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA PARAOXONASE (PON1)

Amostras dos pacientes foram coletadas, após jejum de 12 horas, em tudo seco e o soro foi obtido após 10 minutos de centrifugação, à 3.000 rpm, em centrífuga Sorval RT7. A atividade da PON1 foi medida pela adição de 500 μ L de tampão Tris-HCl 0.1M e pH 8.05, contendo 2 mmol/L de CaCl₂ e 1.1 mmol/L de paraoxon (Sigma Chemical Co.) a 25 μ L de soro. A amostra

foi, então, distribuída em placa de 96 poços fundo chato, 200 μL por poço (em duplicata). A leitura foi feita em “Leitor de Microplacas” (Microplate Reader, Benchmark, Bio-RAD) com comprimento de onda de 405 nm e temperatura de 37°C. Para o cálculo da atividade, foram feitas 6 leituras em intervalos de um minuto cada. O resultado foi obtido multiplicando-se a média da variação das absorbâncias pelo fator descrito abaixo:

Cálculo do Fator:

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

onde,

$$VTR \text{ (Volume Total da Reação)} = 525 \mu\text{L} \text{ (500 } \mu\text{L solução + 25 } \mu\text{L soro)}$$

$\epsilon_{405} = 18050 \text{ L M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Senti et al. J Clin Endocrinol Metab 88:5422-26, 2003; Agachan et al. Cell Biochem Funct 22:163-8, 2004).

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

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

$$E \text{ (espessura da 'cubeta')} = 1 \text{ cm}$$

Substituindo-se os valores e ajustando-os para as unidades internacionais temos:

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

Cálculo da Atividade:

$$\text{Atividade da Paraoxonase} = \text{Fator} \times \Delta\text{abs}/\text{min} = 1163,43 \times \Delta\text{abs nMol min}^{-1} \text{ mL}^{-1},$$

onde,

Δabs = é média da variação das absorbâncias medidas a cada 1 minuto.

4.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A idade, a altura, o peso e o IMC do grupo HIV soropositivo foram analisados estatisticamente com os dados encontrados no grupo controle. O mesmo foi feito com as concentrações de glicose, de colesterol total, de triglicérides, de HDL-colesterol, de LDL-colesterol, de VLDL-colesterol, com a atividade da PON1 e com as transferências dos lipídeos da LDE para a HDL. Para isso, foi utilizado o teste “t” de Student, quando os dados se apresentavam de forma Gauseana (paramétricos).

Foi feita também análise de correlação entre as taxas de transferência dos lipídios para a HDL com os níveis séricos dos lipídios, da glicose, com a atividade da PON1, carga viral, contagem de linfócitos T CD4, CD8 e com o IMC no grupo HIV soropositivo através do teste de Pearson ou de Sperman dependendo da distribuição da amostra.

Em todas as comparações efetuadas, foram consideradas significantes as diferenças que apresentaram $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 CONSTITUIÇÃO DOS GRUPOS ESTUDADOS

Os grupos estudados foram constituídos de forma semelhante em relação ao sexo, à idade e à altura (Tabelas II e III).

5.2 VERIFICAÇÃO DO PESO E ÍNDICE DE MASSA CORPORAL (IMC)

O peso do grupo HIV soropositivo (63.6 ± 10.3) apresentou média inferior àquela verificada no grupo controle ($70,4 \pm 14,8$; $p = 0,031$) (Tabela III).

O IMC do grupo HIV soropositivo ($22,7 \pm 3,0$) apresentou média inferior àquela verificada no grupo controle ($25,8 \pm 3,7$; $p < 0,0001$) (Tabela III).

5.3 CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE GLICOSE

Não foram constatadas diferenças entre os níveis séricos de glicose do grupo HIV soropositivo (88 ± 20.6 mg/dl) quando comparados ao grupo controle (92 ± 18 mg/dl; $p = 0,320$) (Tabela IV).

5.4 CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE LIPÍDEOS

As concentrações séricas de colesterol total, triglicerídeos, LDL e VLDL apresentaram médias mais baixas no grupo de indivíduos infectados pelo HIV (164 ± 30), (99 ± 32 mg/dl), (101 ± 21 mg/dl) e (20 ± 8 mg/dl), em relação ao grupo controle (191 ± 33 mg/dl; $p < 0,001$),

(116 ± 39 mg/dl; $p = 0,0352$), (127 ± 30 mg/dl; $p < 0,0001$) e (23 ± 8 mg/dl; $p = 0,0352$), respectivamente. (Tabela IV).

Não foram constatadas diferenças entre os níveis séricos de HDL-colesterol do grupo HIV soropositivo (43 ± 13 mg/dl) quando comparados ao grupo controle (41 ± 10 mg/dl; p) (Tabela IV).

5.5 ATIVIDADE SÉRICA DA ENZIMA PARAOXONASE

A atividade sérica da paraoxonase apresentou média significativamente menor, no grupo de indivíduos HIV soropositivos ($44,3 \pm 38,6$ nmol.min⁻¹.ml⁻¹), que àquela, verificada no grupo controle ($71,8 \pm 37,4$ nmol.min⁻¹.ml⁻¹; $p = 0,0003$) (Tabela V).

5.6 PERCENTAGEM DE TRANSFERÊNCIA LIPÍDICA

A Figura 5 mostra os valores das taxas de transferência do colesterol livre, colesterol éster, triglicérides e fosfolípidos da LDE para a HDL dos pacientes do grupo HIV soropositivo e dos indivíduos do grupo controle.

Na Figura 5, verifica-se que a taxa de transferência do ¹⁴C-colesterol livre do grupo HIV soropositivo foi menor que a do grupo controle ($5,0 \pm 1,1\%$ e $6,3 \pm 1,1\%$ respectivamente; $p < 0,0001$). O mesmo ocorreu com a taxa de transferência do ³H-triglicérides do grupo HIV soropositivo quando comparados ao grupo controle ($2,7 \pm 0,7\%$ e $3,5 \pm 0,6\%$ respectivamente; $p < 0,0001$).

A taxa de transferência de ¹⁴C-fosfolípide no grupo HIV soropositivo foi maior quando comparado ao grupo controle ($23,4 \pm 1,6\%$ e $17,5 \pm 0,9\%$ respectivamente; $p < 0,0001$). No entanto, a taxa de transferência de ³H-colesterol éster quando comparado ao grupo controle ($3,0 \pm 0,7\%$ e $2,8 \pm 1,3\%$ respectivamente; $p = 0,5369$) não apresentou diferença estatisticamente significativa.

Como demonstrado na Tabela VI, a taxa de transferência do ¹⁴C-colesterol livre do grupo HIV soropositivo se correlacionou positivamente com as concentrações séricas de colesterol total ($r = 0,4995$; $p = 0,0003$), de triglicérides ($r = 0,2864$; $p = 0,0484$), de HDL-colesterol ($r = 0,5204$;

$p = 0,0001$), de LDL-colesterol ($r = 0,3072$; $p = 0,0337$) e de glicose ($r = 0,3470$; $p = 0,0157$). Houve correlação negativa entre a taxa de transferência do ^{14}C -colesterol livre e a carga viral ($r = 0,2952$; $p = 0,0416$) do grupo HIV soropositivo. Não houve correlação neste grupo entre a taxa de transferência de ^{14}C -colesterol livre e a contagem de células T CD4 ($p = 0,5919$) e de células T CD8 ($p = 0,9125$). A atividade da PON1 ($p = 0,8372$) e o IMC ($p = 0,3228$) também não se correlacionaram com a taxa de transferência do ^{14}C -colesterol livre do grupo HIV soropositivo.

Também demonstrado na Tabela VI, a taxa de transferência de ^{14}C -fosfolípide do grupo HIV soropositivo se correlacionou positivamente com os níveis séricos de triglicérides ($r = 0,3938$; $p = 0,0056$) deste grupo. A taxa de transferência do ^{14}C -fosfolípide não se correlacionou com a taxa transferência com os valores de colesterol total ($p = 0,0789$), de HDL-colesterol ($p = 0,8068$), de LDL-colesterol ($p = 0,1371$), glicose ($p = 0,1036$), de carga viral ($p = 0,3434$), de células T CD4 ($p = 0,1347$), de células T CD8 ($p = 0,2937$). A atividade da PON 1 ($p = 0,8662$) e o IMC ($p = 0,9452$) também não se correlacionaram com a taxa de transferência de ^{14}C -fosfolípide.

Ainda, na Tabela VI, a taxa de transferência de ^3H -colesterol éster do grupo HIV soropositivo se correlacionou positivamente com os valores de colesterol total ($r = 0,5235$; $p = 0,0001$), de LDL-colesterol ($r = 0,4273$; $p = 0,0025$), de triglicérides ($r = 0,4816$; $p = 0,0005$). Não foi encontrada correlação entre a taxa de transferência do ^3H -colesterol éster e os valores de HDL-colesterol ($p = 0,0626$), de glicose ($p = 0,0670$), de carga viral ($p = 0,1887$), de células T CD4 ($p = 0,2315$), de células T CD8 ($p = 0,5868$). A atividade da PON1 ($p = 0,9561$) e o IMC ($p = 0,5835$) também não se correlacionaram com a taxa de transferência do ^{14}C -colesterol éster do grupo HIV soropositivo.

Conforme Tabela VI, a taxa de transferência do ^3H -triglicérides do grupo HIV soropositivo se correlacionou positivamente com os valores de colesterol total ($r = 0,4997$; $p = 0,0003$), de triglicérides ($r = 0,4304$; $p = 0,0023$), de células T CD8 ($r = 0,3594$; $p = 0,0121$). Não houve correlação entre a taxa de ^3H -triglicérides e os valores de HDL-colesterol ($p = 0,1671$), de LDL-colesterol ($p = 0,0014$), de glicose ($p = 0,1233$), de carga viral ($p = 0,5509$) e de células T CD4 (r

= 0,3775). A atividade da PON1 ($p = 0,8014$) e o IMC ($p = 0,5442$) também não se correlacionaram com a taxa de transferência de ^3H -triglicérides do grupo HIV soropositivo.

TABELA II: Distribuição dos indivíduos, nos diferentes grupos estudados, de acordo com o sexo.

Grupo	Feminino		Masculino		Total
	n	%	n	%	
Grupo Controle	29	64,4	16	35,6	45
HIV soropositivo	26	54,17	22	45,83	48
Total	55		38		93

Dados expressos em percentage, teste “t” de Student.
Abreviaturas: n = número de indivíduos estudados.

TABELA III: Distribuição dos indivíduos de acordo com a idade, o peso, a altura e o IMC dos grupos estudados.

Parâmetros	Controle (n=45)	HIV (+) (n=48)	p
Idade	38 ± 9,2	37,5 ± 7,9	NS
Altura (m)	1,6 ± 0,1	1,7 ± 1,1	NS
Peso (Kg)	70,4 ± 14,8	63,6 ± 10,3	0,031
IMC	25,8 ± 3,7	22,7 ± 3,0	<0,0001

Dados expressos em média ± desvio padrão, teste “t” de Student.
Abreviaturas: n = número de indivíduos estudados; NS = Não Significativo.

TABELA IV: Concentrações plasmáticas dos lipídios e glicose dos grupos HIV soropositivos e Controle.

Determinações	Controle	HIV (+)	p
Bioquímicas	(n=45)	(n=48)	
Colesterol (mg/dl)			
Total	191 ± 33	164 ± 30	0,0002
HDL-colesterol	41 ± 10	43 ± 13	NS
LDL-colesterol	127 ± 30	101 ± 21	<0,0001
VLDL-colesterol	23 ± 8	20 ± 8	0,0352
Triglicérides	116 ± 39	99 ± 32	0,0352
Glicose (mg/dl)	92 ± 18	88 ± 21	NS

Dados expressos em média ± desvio padrão, teste “t” de Student.

Abreviaturas: n = número de indivíduos estudados; NS = Não Significativo.

TABELA V: Media da atividade da paraoxonase nos grupos HIV soropositivos e Controle.

Parâmetro	Controle	HIV (+)	p
	(n=45)	(n=48)	
PON1 (nmol.min⁻¹.ml⁻¹)	71,8 ± 37,4	44,3 ± 38,6	0,0003

Dados expressos em média ± desvio padrão, teste “t” de Student.

Abreviaturas: n = número de indivíduos estudados; PON1 = Paraoxonase 1.

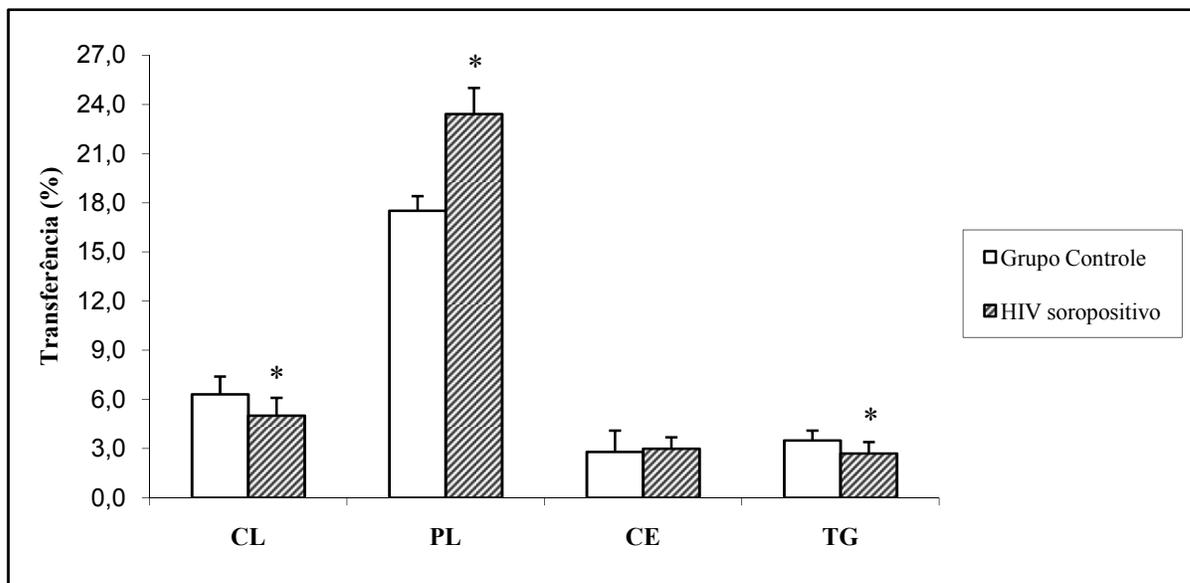


FIGURA 5 - Taxa de transferência do colesterol livre, colesterol éster, triglicérides e fosfolípidos da LDE para a HDL nos grupos HIV soropositivos e Controle. Comparação entre os grupos HIV soropositivo e controle: * $p < 0,0001$, teste “t” de Student. Abreviaturas: CL = colesterol livre, PL = fosfolípide, CE = colesterol éster, TG = triglicérides.

Tabela VI: Correlações estatísticas através do teste de Pearson entre a transferência as taxas de transferência de colesterol livre ($^{14}\text{C-CL}$), de fosfolípide ($^{14}\text{C-PL}$), de colesterol éster ($^3\text{H-CE}$) e de triglicérides ($^3\text{H-TG}$) e as concentrações séricas de lipídios, glicose, carga viral, contagem de células T CD4 E CD8 e Índice De Massa Corpórea.

Parâmetros	$^{14}\text{C-CL}$ (%)	$^{14}\text{C-PL}$ (%)	$^3\text{H-CE}$ (%)	$^3\text{H-TG}$ (%)
Colesterol Total	0,4995 0,0003	0,2561 0,0789	0,5235 0,0001	0,4997 0,0003
HDL-colesterol	0,5204 0,0001	0,0362 0,8068	0,2709 0,0626	0,2027 0,1671
LDL-colesterol	0,3072 0,0337	0,2177 0,1371	0,4273 0,0025	0,4484 0,0014
Triglicérides	0,2864 0,0484	0,3938 0,0056	0,4816 0,0005	0,4304 0,0023
Glicose	0,3470 0,0157	0,2378 0,1036	0,2666 0,0670	0,2255 0,1233
PON1	- 0,0304 0,8372	- 0,0249 0,8662	0,0081 0,9561	0,0372 0,8014
Carga Viral	- 0,2952 0,0416	0,1398 0,3434	- 0,1930 0,1887	- 0,0882 0,5509
CD4	0,0794 0,5916	0,2190 0,1347	0,1760 0,2315	0,1303 0,3775
CD8	- 0,0162 0,9125	0,1547 0,2937	- 0,0804 0,5868	0,3594 0,0121
IMC	0,1458 0,3228	0,0101 0,9452	0,0811 0,5835	0,0897 0,5442

6 DISCUSSÃO

6.1 IMC

No presente estudo observamos que os indivíduos infectados pelo HIV apresentaram peso corporal menor que o grupo controle (Tabela 3). Estudos anteriores mostram que os indivíduos infectados pelo HIV apresentam diminuição do peso corporal, que pode estar relacionada a alterações metabólicas, deficiência na absorção nutricional, anorexia, uso de medicamentos ou distúrbios gastrintestinais (KOTLER, 2000; MORLEY; THOMAS; WILXON, 2006), o que possivelmente, poderia explicar a perda do peso corporal dos pacientes deste estudo.

As conseqüências clínicas da perda de peso nestes pacientes está associada ao aumento de risco de infecções oportunistas e ao aumento da mortalidade (WHEELER, 1999).

As citocinas ativam o fator nuclear de transcrição κB (NF- κB), o que resulta na diminuição da síntese de proteínas no músculo. Além disso, elas também estimulam a liberação de cortisol, catecolaminas das glândulas adrenais e hormônios da tireóide, resultando no aumento do metabolismo nestes pacientes (MELCHIOR, 1997; MORLEY; THOMAS; WILSON, 2006).

A perda de massa corporal verificada nos indivíduos infectados pelo HIV (Tabela 3), pode ser em conseqüência do aumento do catabolismo, maior gasto energético em repouso e da anorexia decorrente da produção aumentada de citocinas como IL-1, IL-2, IL-6, TNF e IFN- γ (MELCHIOR, 1997).

TREITINGER et al. (2001), correlacionaram os níveis lipídicos e alterações de proteínas de fase aguda em indivíduos infectados pelo HIV nos estágios iniciais da infecção. Neste estudo,

verificaram mudanças no metabolismo de proteínas, lipídeos e lipoproteínas, concluindo que essas alterações podem estar associadas à resposta imune do hospedeiro durante a infecção, sendo mediada por diversas citocinas como TNF, interleucinas e interferons, as quais influenciam nos níveis de triglicerídeos e HDL. Sendo que, a INF- α encontra-se elevada na AIDS e em indivíduos HIV soropositivos e é positivamente correlacionada com concentrações alteradas de triglicerídeos. Possivelmente, isso poderia explicar a perda da massa corporal apresentada nos pacientes deste estudo.

6.2 COLESTEROL TOTAL, TG, LDL, HDL E VLDL

Estudos realizados anteriormente sobre o comportamento dos níveis séricos dos triglicerídeos, em indivíduos soropositivos (Tabelas 4), respectivamente, apresentaram resultados conflitantes. DOERRLER; FEINGOLD; GRUNFELD (1994), verificaram aumento nos níveis séricos de triglicerídeos e VLDL em pacientes HIV soropositivos, sugerindo que essa tendência pode ser atribuída a um aumento na síntese de ácidos graxos no fígado e conseqüentemente, aumento na secreção de VLDL, ou a um aumento da lipólise no tecido adiposo o que levaria a reesterificação dos ácidos graxos mobilizados e formação de triglicerídeos no fígado, ou ainda, a uma menor atividade da lipase lipoprotéica endotelial ou a diminuição da depuração de triglicerídeos, em resposta a ação de citocinas mediadoras da resposta imune como IL-1 e IFN- α . MIRANDA-FERNANDEZ et al. (1998), relataram que níveis elevados de triglicerídeos são observados em estágios iniciais da infecção, onde o sistema imunológico encontra-se menos debilitado. No grupo de pesquisa de TREITINGER et al. (2001), verificaram alterações lipídicas em indivíduos infectados pelo HIV nos estágios iniciais da doença, demonstrando hipertrigliceridemia nestes pacientes com alterações na resposta imune celular e decréscimo nos níveis de colesterol total e colesterol da fração lipoprotéica HDL. Segundo MIRANDA-FERNANDEZ et al. (1998), esse decréscimo tem sido observado nos estágios iniciais da infecção, sendo mais evidente quando se observa decréscimo na contagem de linfócitos T CD4.

Neste trabalho verificou-se que os níveis de triglicerídeos e a fração lipoprotéica VLDL apresentaram valores diminuídos no grupo HIV soropositivo em relação ao grupo controle e os níveis de colesterol apresentaram valores aumentados no grupo de indivíduos infectados pelo HIV. Os níveis da fração lipoprotéica HDL dos indivíduos HIV soropositivos não apresentaram

diferença significativa quando comparados ao grupo controle. Estes resultados são discordantes de CONSTANS et al.(1994) e ZANGERLE et al.(1994) que verificaram uma diminuição dos níveis séricos da fração lipoprotéica de HDL e um aumento dos níveis séricos de triglicérides em pacientes infectados pelo HIV. SPOSITO et al. (1997), verificaram diminuição dos níveis séricos de HDL e um aumento dos níveis séricos de triglicérides e de LDL. Estes resultados discordantes de estudos relatados na literatura, podem ser decorrentes das variações individuais dos componentes do grupo, em relação ao estadiamento da infecção pelo HIV, no qual estes indivíduos se encontravam, ou decorrente de complicações metabólicas do curso da infecção.

Os níveis séricos de colesterol total e da fração lipoprotéica LDL (Tabela 4), respectivamente, demonstraram diminuição nos indivíduos infectados pelo HIV. Estes resultados confirmam as observações de COODLEY & COODLEY (1991) e TREITINGER et al. (2001), que verificaram níveis menores de colesterol total em pacientes HIV soropositivos. O comportamento dos níveis séricos do colesterol total e da fração lipoprotéica LDL, são concordantes com os resultados obtidos por GRUNFELD & FEINGOLD (1992), os quais compararam indivíduos classificados como assintomáticos e como portadores do HIV com indivíduos não infectados pelo HIV. A diminuição dos níveis séricos de colesterol total e da fração lipoprotéica LDL pode ser atribuído como um marcador da progressão da infecção pelo HIV para AIDS (SHOR-POSNER et al., 1993). ZANGERLE et al. (1994), concluíram que a diminuição progressiva dos níveis séricos de colesterol total e da fração lipoprotéica LDL, com a progressão da infecção, indica que os distúrbios do metabolismo lipídico estão associados com a ativação imunológica decorrente da infecção pelo HIV. A redução progressiva dos níveis séricos do colesterol total e do colesterol da fração lipoprotéica LDL, observada em pacientes infectados pelo HIV, pode ser decorrente do aumento da síntese de receptores de LDL pelos hepatócitos, em consequência da ação de citocinas como IL-1 e TNF (STOPECK et al., 1993). Portanto, os resultados deste estudo, corroboram os achados anteriores do grupo de pesquisa de TREITINGER et al. (2001), em que foi evidenciada correlação positiva entre níveis aumentados de proteínas de fase aguda e alterações metabólicas dos níveis lipídicos em indivíduos infectados pelo HIV.

Diversas anormalidades metabólicas e morfológicas estão associadas à infecção pelo HIV, como mencionado anteriormente, e à terapia antirretroviral, as quais incluem hipertrigliceridemia, diminuição da fração lipoprotéica de HDL-colesterol, aumento da fração lipoprotéica de LDL-

colesterol, hipercolesterolemia, resistência à insulina, perda de gordura periférica, acúmulo de gordura central, acúmulo de gordura no dorso entre outras. Essas complicações metabólicas representam fatores de risco para o desenvolvimento de Diabetes Mellitus tipo 2 e doenças cardiovasculares. De 10 a 50% dos pacientes infectados pelo HIV podem desenvolver uma ou mais destas características, dificultando a escolha de uma terapia eficaz capaz de suprimir a replicação viral sem propiciar o desenvolvimento secundário de condições crônicas (SHERER, 2003; VALENTE et al., 2005).

Neste estudo não foram encontradas anormalidades metabólicas nos pacientes HIV soropositivos decorrentes da terapia antirretroviral, pois os parâmetros bioquímicos avaliados não apresentaram valores concordantes com estas características, embora, alguns destes pacientes estivessem fazendo uso de terapia antirretroviral.

6.3 PARAOXONASE

A replicação viral e algumas manifestações clínicas da infecção pelo HIV envolvem um desequilíbrio nas reações de redução-oxidação e produção de radicais livres, e neste estudo verificou-se uma diminuição da atividade sérica da enzima paraoxonase em pacientes HIV soropositivos. Segundo AVIRAM et al. (1999), isso se deve, possivelmente, à oxidação induzida pelo HIV que poderia acarretar um aumento de radicais livres que se ligam na paraoxonase, resultando em uma menor atividade da mesma na circulação, mecanismo semelhante ao que ocorre na reação de lipídeos oxidados com o grupamento-SH livre que se liga a cisteína-284 (sítio de ligação) na paraoxonase, levando a inativação da enzima.

Alguns estudos têm sugerido que a paraoxonase é um fator importante, responsável pela atividade antioxidante da HDL (YAMANE et al., 2006). SARKAR; SHIVAPRAKASH; MADHUSUDHAM (2006), avaliando a associação entre a atividade da paraoxonase e os níveis lipídicos em pacientes com doença prematura na artéria coronária, verificaram um comprometimento da função da HDL em proteger a LDL da oxidação em pacientes com doença na artéria coronária, possivelmente pela diminuição da atividade sérica da paraoxonase, contudo, com concentrações de HDL normais. A diminuição da atividade sérica da paraoxonase foi verificada quando as concentrações de HDL estavam diminuídas, porém, MACKNESS et al. (1991), concluíram que a diminuição na atividade da paraoxonase é independente das mudanças

da HDL. ABBOTT et al. (1995), avaliaram a relação entre stress oxidativo de lipoproteínas e a atividade da paraoxonase associada a HDL em indivíduos obesos. No estudo verificaram uma diminuição na atividade sérica da paraoxonase em pacientes diabéticos e esta atividade diminuída foi independente das concentrações séricas de lipídeos e lipoproteínas, pois as concentrações séricas de HDL estavam significativamente maiores nos indivíduos diabéticos e com a atividade da paraoxonase diminuída. Portanto, concluíram que esses resultados podem decorrer da presença de inibidores endógenos nesses pacientes ou são decorrentes de distúrbios na interação entre a paraoxonase e a HDL (FERRETTI et al., 2006).

FERRETTI et al. (2003) verificaram em seus estudos modificações nos níveis plasmáticos de lipoproteínas isoladas de indivíduos obesos e alterações na atividade enzimática de proteínas envolvidas no metabolismo de lipoproteínas. Porém, nos estudos do mesmo grupo (FERRETTI et al. 2005), foi demonstrada uma diminuição na atividade da paraoxonase em indivíduos obesos mesmo na ausência de mudanças da HDL, sendo, portanto, observado que a diminuição da atividade da paraoxonase é independente de modificações na HDL. Sendo assim, ABBOTT et al. (1995) e FERRETTI et al. (2005), concluem que a diminuição na atividade da paraoxonase pode aumentar a susceptibilidade ao desenvolvimento de doenças relacionadas à peroxidação lipídica, como aterosclerose.

A HDL exerce efeito protetor contra a aterosclerose, que resulta de várias ações, as quais incluem: efeito antioxidante, antiinflamatório, antitrombótico e atua, principalmente, no transporte reverso do colesterol (BATER et al., 2003). Neste estudo foi avaliado o efeito antioxidante da HDL pela medida da atividade da enzima paraoxonase e os resultados demonstraram que a atividade sérica da enzima paraoxonase foi menor no grupo de indivíduos HIV soropositivos (Tabela 5), resultados estes que confirmam as observações de PARRA et al. (2006), que avaliaram a influência da infecção pelo HIV sobre a atividade sérica da paraoxonase e a relação com as concentrações séricas de LDL e colesterol total. Neste estudo observaram que os indivíduos infectados pelo HIV apresentaram diminuição significativa na atividade da paraoxonase, dos níveis séricos de LDL e colesterol total. Contudo, concluem que a atividade da paraoxonase pode sofrer influência da infecção pelo HIV e das alterações lipídicas decorrentes da mesma, e estes resultados sugerem ainda que a paraoxonase pode ser importante para retificar os transtornos relacionados à infecção. Possivelmente isso poderia explicar a diminuição sérica da

atividade da paraoxonase, das concentrações séricas de LDL e colesterol total, observados neste trabalho.

6.4 TAXA DE TRANSFERÊNCIA DO COLESTEROL LIVRE, COLESTEROL ÉSTER, TRIGLICÉRIDES E FOSFOLÍPIDES DA LDE PARA A HDL NOS GRUPOS HIV SOROPOSITIVOS E CONTROLE

A infecção e a inflamação são acompanhadas por alterações nas proteínas de fase aguda, as quais são produzidas no intuito de neutralizar o microrganismo e minimizar o dano tecidual. A síntese dessas proteínas é mediada por citocinas em resposta a estímulos celulares, incluindo macrófagos, monócitos, linfócitos T e células endoteliais. Dentre as citocinas responsáveis pela resposta imune incluem-se fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucinas (ILs) e interferons (IFN). Durante o processo infeccioso e inflamatório, essas citocinas induzem alterações no metabolismo dos lipídios e das lipoproteínas (KHOVIDHUNKIT et al., 2004). Estudos relatam que essas alterações são claramente evidenciadas na infecção causada pelo vírus HIV, caracterizada pelo aumento da proliferação de leucócitos, da síntese de citocinas, de imunoglobulinas e de proteínas de fase aguda (JAHOOOR et al., 1999).

A essas alterações está associado o “stress” oxidativo, uma das características da infecção e inflamação, e este causa um desequilíbrio entre os fatores pró-oxidantes e antioxidantes, causando uma disfunção endotelial, processo central na patofisiologia da aterosclerose (KONTUSH & CHAPMAN, 2006). Esta é uma doença inflamatória crônica que aumenta a permeabilidade endotelial levando a lesões. Essa dano endotelial provocado pela produção excessiva de pró-oxidantes (espécies reativas de oxigênio – EROs) e a ativação celular, envolve a penetração e a retenção de partículas de LDL oxidadas (KONTUSH & CHAPMAN, 2006; HARLAN; CHAN; BENEDICT, 2006). Esse processo provoca o acúmulo dessas partículas que estimulam a produção de moléculas pró-inflamatórias, incluindo moléculas de adesão e fator de crescimento. Com isso ocorre o acúmulo subendotelial de colesterol englobado pelos macrófagos neste local, os quais não são capazes de degradá-lo, formando as “*foam cells*” (LUSIS, 2000).

Durante a infecção causada pelo vírus HIV, ocorre um aumento na produção de EROs. Característica observada por SPADA et al. (2002), os quais realizaram um estudo com pacientes HIV soropositivos onde os mesmos foram suplementados com antioxidante (α -tocoferol). Neste,

concluíram que houve uma associação positiva entre a suplementação com antioxidante e a reconstituição imune nos pacientes suplementados com α -tocoferol.

Um dos pontos principais da “hipótese lipídica” da aterogênese é a concentração da HDL correlacionar-se negativamente com a incidência da doença cardiovascular (JOHNSEN et al., 2005). Este efeito protetor resulta de diversas ações da HDL, que incluem: efeito antioxidante, antiinflamatório, antitrombótico e com papel maior no transporte reverso do colesterol (BARTER et al., 2002). Estudos têm relatado uma ligação entre HDL e aterosclerose, evidenciando que a oxidação da LDL é o maior fator para o desenvolvimento desta patologia e a HDL é capaz de proteger as células endoteliais contra os efeitos citotóxicos desse processo através de enzimas antioxidantes como a paraoxonase (NAVAB et al., 2001; KONTUSH & CHAPMAN, 2006).

Esta enzima está associada a HDL e é capaz de prevenir a oxidação da LDL e inativar os fosfolipídios oxidados provenientes da mesma (COSTA et al., 2005). Em 2005 ESTEVE; RICART; FERNANDEZ-REAL, relataram que durante o processo infeccioso ocorre uma diminuição na atividade da PON 1 e em 2006 PARRA et al., demonstraram que pacientes infectados pelo HIV apresentavam diminuição na atividade desta mesma enzima, o que vai ao encontro dos resultados obtidos neste trabalho, como mencionado anteriormente. Com isso, podemos observar que a propriedade antioxidante da HDL está alterada.

Alguns estudos realizados por CONSTANS et al. (1994), ZANGERLE et al. (1994), SPOSITO et al. (1997) e DUCOBU & PAYEN (2000), demonstraram que pacientes HIV soropositivos apresentavam diminuição dos níveis séricos de HDL. Porém, os pacientes deste estudo não apresentaram diferença nos níveis séricos de HDL quando comparados ao grupo controle. No entanto, em associação com alterações metabólicas as partículas de HDL perdem suas atividades biológicas normais e adquirem novas propriedades, tornando-se partículas disfuncionais (KONTUSH & CHAPMAN, 2006) e NAVAB et al. (2001) e GOU et al. (2005), sugerem que mesmo em pacientes com concentrações de HDL normais, mas com alterações metabólicas, podem ter HDL com funções anormais, sendo susceptível ao desenvolvimento de aterosclerose e doença cardiovascular.

Como mencionado anteriormente, a HDL tem um papel maior no transporte reverso do colesterol, evitando o acúmulo de colesterol nas células, o que poderia comprometer gravemente a homeostase e essa função envolve trocas de lipídios entre as lipoproteínas.

O colesterol na sua forma esterificada e os triglicérides localizam-se no núcleo da lipoproteína, enquanto que o colesterol livre se posiciona na superfície, entre moléculas de fosfolípides que constituem a monocamada que envolve a partícula (VOET & VOET, 1995). Diferenças de polaridade molecular, sendo a forma esterificada mais apolar do que a livre, determinam essas localizações na partícula da lipoproteína, assim como das partículas da LDE. A forma esterificada não tende a sair espontaneamente da lipoproteína. Proteínas especializadas, chamadas de proteínas de transferência, promovem a movimentação de lípidos como éster de colesterol, triglicérides e fosfolípides, retirando essas moléculas de uma classe de lipoproteínas e reposicionando-as em outra classe. Entre elas, a CETP é muito ativa no sentido de transferir tanto éster de colesterol quanto triglicérides e a PLTP é muito ativa no sentido de transferir fosfolípides e colesterol livre de uma partícula para outra (WANG & BRIGGS, 2004).

No presente trabalho, os pacientes HIV soropositivos apresentaram uma diminuição na transferência de colesterol livre e de triglicérides da LDE para a HDL, no mesmo grupo, houve um aumento da transferência de fosfolípide, monitorada pela taxa de transferência do ^{14}C -colesterol livre, ^3H -triglicérides, e ^{14}C -fosfolípide. Ainda neste estudo, pôde-se observar uma correlação positiva entre a taxa de transferência do ^{14}C -colesterol livre com os níveis séricos de colesterol total ($r = 0,4995$), de HDL-colesterol ($r = 0,5204$), de LDL-colesterol ($r = 0,3072$), de triglicérides ($r = 0,2864$), de glicose ($r = 0,3470$) e uma correlação negativa com a carga viral ($r = -0,2952$). Houve correlação positiva entre ^{14}C -fosfolípide com os níveis séricos de triglicérides ($r = 0,3938$), entre ^3H -colesterol éster com os níveis séricos de colesterol total ($r = 0,5235$), LDL-colesterol ($r = 0,4273$) e triglicérides ($r = 0,4816$) e entre ^3H -triglicérides com os níveis séricos de colesterol total ($r = 0,4997$), de triglicérides ($r = 0,4304$) e contagem de células T CD8 ($r = 0,3594$).

Levando em consideração que a capacidade em receber lípidos de outras lipoproteínas seja a característica fundamental da HDL, podemos dizer que os resultados do presente estudo mostram que os pacientes infectados pelo HIV apresentam alterações nesta habilidade e, conseqüentemente, uma alteração no circuito do transporte reverso do colesterol. Por se tratar de uma lipoproteína com função anti-aterogênica, essa alteração pode ser importante na gênese da doença cardiovascular.

A fim de esclarecer os circuitos envolvidos no transporte de lípidos, neste trabalho olhamos para a HDL sob um aspecto qualitativo. O conjunto de alterações no metabolismo lipídico deve

contribuir para o desenvolvimento da doença cardiovascular e a contribuição destas alterações precisa ser melhor elucidada.

A etiologia da doença cardiovascular é de caráter multifatorial e todos os esforços no sentido de controlar os fatores envolvidos na sua formação podem contribuir para um sobrevida maior e melhor qualidade de vida desses pacientes.

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que:

- A transferência de colesterol livre e de triglicérides da LDE para HDL foram maiores no grupo HIV soropositivo e a transferência de fosfolípidos e foi menor neste grupo, medidas pela taxa de transferência de $^{14}\text{C-CL}$, de $^3\text{H-TG}$ e de $^{14}\text{C-PL}$. Com isso, pode-se sugerir que os pacientes infectados pelo HIV apresentam alterações na habilidade da HDL em receber lipídios de outras lipoproteínas, alterando o circuito do transporte reverso do colesterol. Essa alteração pode ser importante na gênese de doenças cardiovasculares, por se tratar de uma lipoproteína anti-aterogênica.

- A atividade sérica da paraoxonase 1 apresentou diminuição nos pacientes HIV soropositivos, demonstrando possivelmente, uma alteração funcional (antioxidante) da fração lipoprotéica HDL;

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, C.A.; MACKNESS, M.I.; KUMAR, S.; BOULTON, A.J.; DURRINGTON, P.N. Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 15:1812–8, 1995.

AGACHAN, B.; YILMAZ, H.; ERGEN, H.A.; KARAALI, Z.E.; ISBIR, T. Paraoxonase (PON1) 55 and 192 polymorphism and its effects to oxidant-antioxidant system in turkish patients with type 2 diabetes mellitus. **Physiol Res**, 54(3):287-93, 2005.

AVIRAM, M.; ROSENBLAT, M.; BILLECKE, S.; EROGUL, J.; SORENSON, R.; BISGAIER, C.L.; NEWTON, R.S.; LA, D.U. B. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. **Free Radic Biol Med**, 26(7-8):892-904, 1999.

BARRÉ-SINOUSSE, F. HIV as the cause of AIDS. **Lancet**, 348: 31-35, 1996.

BARRE-SINOUSSE, F.; CHERMANN, J.C.; REY, F.; NUGEYRE, M.T.; CHAMARET, S.; GRUEST, J.; DAUGUET, C.; AXLER-BLIN, C.; VEZINET-BRUN, F.; ROUZIOUX, C.; ROZENBAUM, W.; MONTAGNIER, L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, 220(4599):868-71, 1983.

BARTER, P.; KASTELEIN, J.; NUNN, A.; HOBBS, R. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. **Atherosclerosis**, 168(2):195-211, 2003.

BOSSIS, G.; SALINAS, S.; CARTIER, C.; DEVAUX, C.; BRIANT, L. NF-kappaB activation upon interaction of HIV-1 envelope glycoproteins with cell surface CD4 involves IkappaB kinases. **FEBS Lett**, 516(1-3):257-64, 2002.

BRASIL, Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de DST/AIDS. **Boletim Epidemiológico – AIDS**, ISSN: 1517-1159. Ano III, Nº 1, 1ª a 26ª Semana Epidemiológica, janeiro a junho, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de DST/AIDS. Novo algoritmo do diagnóstico da infecção pelo HIV e programa de controle de qualidade analítico do diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV. Portaria Nº59/28-Janeiro/2003. *www.aids.gov.br.*, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. Recomendações para terapia antirretroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV, 2006.

BUHMANN, K.F.; ACCAD, M.; FARESE Jr., R.V. Mammalian acyl-CoA:cholesterol acyltransferases. **Biochim. Biophys. Acta.** 1529: 142-154, 2000.

BUKRINSKY, M.I.; HAGGERTY, S.; DEMPSEY, M.P.; SHAROVA, N.; ADZHUBEL, A.; SPITZ, L.; LEWIS, P.; GOLDFARB, D.; EMERMAN, M.; STEVENSON, M. A nuclear localization signal within HIV-1 matrix protein that governs infection of non-dividing cells. **Nature**, 365(6447):666-9, 1993.

CASTILHO, E.A.; SCWARCWALD, C.L.; BASTOS, F.I.; FONSECA, M.G.M. **Caderno de Saúde Pública.** Rio de Janeiro, 16(Supl. 1): 4-5, 2000.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults.** MMWR, 41(17): 1-19, 1992.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Guidelines for national human immunodeficiency virus case surveillance, including monitoring for human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome.** MMWR, 48 (13): 1-31, 1999.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Health information for international travel 2005-2006. Atlanta. US Department of Health and Human Services. Public Health Service, 2005.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Divisions of HIV/AIDS Prevention-Reported to CDC-October-1998:** *www.cdc.gov/publications. htm.*, 2006.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Divisions of HIV/AIDS Prevention-Reported to CDC-Sep-2003: *www.cdc.gov/publications. htm.*, 2006.

CHAIX, C.; GRENIER-SENNELEIER, C.; CLEVENBERGH, P.; DURANT, J.; SCHAPIRO, J.M.; DELLAMONICA, P.; DURAND-ZALESKI, I. Economic evaluation of drug resistance genotyping for the adaptation of treatment in HIV-infected patients in the VIRADAPT study. **J Acquir Immune Defic Syndr**, 24(3):227-31, 2000.

CHOWERS, M.Y.; SPINA, C.A.; KWOH, T.J.; FITCH, N.J.; RICHMAN, D.D.; GUATELLI, J.C. Optimal infectivity in vitro of human immunodeficiency virus type 1 requires an intact nef gene. **J Virol**, 68(5):2906-14, 1994.

COCCHI, F.; DEVICO, A.L.; GARZINO-DEMO, A.; ARYA, S.K.; GALLO, R.C.; LUSSO, P. Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. **Science**, 270(5243):1811-5, 1995.

COFFIN, J.; HAASE, A.; LEVY, J.A.; MONTAGNIER, L.; OROSZLAN, S.; TEICH, N.; TEMIN, H.; TOYOSHIMA, K.; VARMUS, H.; VOGT, P.; ET, A.L. What to call the AIDS virus? **Nature**, 321(6065):10, 1986.

COFFIN, J.M. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. **Science**, 267: 483-489, 1995.

CONSTANS, J.; PELLEGRIN, J.L.; PEUCHANT, E., et al. Plasma lipids in HIV-infected patients: a prospective study in 95 patients. **Eur J Clin Invest**, 24:416-20, 1994.

COODLEY, G.; COODLEY, M.K. Hypocholesterolemia and malabsorption in HIV infection. **West J Med. Jun**, 154(6):735, 1991.

COSTA, L.G.; VITALONE, A.; COLE, T.B.; FURLONG, C.E. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. **Biochem Pharmacol**, 69(4):541-50, 2005.

DALGLEISH, A.G.; BEVERLEY, P.C.; CLAPHAM, P.R.; CRAWFORD, D.H.; GREAVES, M.F.; WEISS, R.A. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. **Nature**, 312(5996):763-7, 1984.

DEAKIN, S.P.; JAMES, R.W. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. **Clin Sci (Lond)**, 107(5):435-47, 2004.

DOERRLER, W.; FEINGOLD, K.R.; GRUNFELD, C. Cytokines induce catabolic effects in cultured adipocytes by multiple mechanisms. **Cytokine**. 6(5):478-84, 1994.

DORANZ, B.J.; RUCKER, J.; YI, Y.; SMYTH, R.J.; SAMSON, M.; PEIPER, S.C.; PARMENTIER, M.; COLLMAN, R.G.; DOMS, R.W. A dual-tropic primary HIV-1 isolate that uses fusin and the beta-chemokine receptors CKR-5, CKR-3, and CKR-2b as fusion cofactors. **Cell**, 85(7):1149-58, 1996.

DUCOBU, J.; PAYEN, M.C. Lipids and AIDS **Rev Med Brux**, 21(1):11-7, 2000.

ESTEVE, E.; RICART, W.; FERNANDEZ-REAL, J.M. Dyslipidemia and inflammation: an evolutionary conserved mechanism. **Clin Nutr**, 24(1):16-31, 2005.

FAUCI, A.; BRAUNWALD, E.; ISSELBACHER, K.J. WILSON, J.D.; MARTIN, J.B.; KASPER, D.L.; HAUSER, S.L.; LONGO, D. **Harrison: Medicina interna**. 14 ed, v.2. Rio de Janeiro: McGraw Hill, p. 1904-69, 1998.

FAUCI, A.S. HIV and AIDS: 20 years of science. **Nature Medicine**. 9(7): 839-843, 2003.

FEINGOLD, K.R.; GRUNFELD, C. Role of cytokines in inducing hyperlipidemia. **Diabetes**, 41 (Suppl 2):97-101, 1992.

FEINGOLD, K.R.; HARDARDOTTIR, I.; GRUNFELD, C. Beneficial effects of cytokine induced hyperlipidemia. **Z Ernahrungswiss**, 37 (Suppl 1):66-74, 1998.

FENG, Y.; BRODER, C.C.; KENNEDY, P.E.; BERGER, E.A. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. **Science**, 272(5263):872-7, 1996.

FERRETTI, G.; BACCHETTI, T.; MAROTTI, E.; CURATOLA, G. Effect of homocysteinylolation on human high-density lipoproteins: a correlation with paraoxonase activity. **Metabolism**, 52(2):146-51, 2003.

FERRETTI, G.; BACCHETTI, T.; MORONI, C.; SAVINO, S.; LIUZZI, A.; BALZOLA, F.; BICCHIEGA, V. Paraonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. **J Clin Endocrinol Metab**, 90(3):1728-33, 2005.

FIGDOR, C.G.; VAN KOOYK, Y.; ADEMA, G.J. C-type lectin receptors on dendritic cells and Langerhans cells. **Nat Rev Immunol**, 2(2):77-84, 2002.

FILHO, G.B. **Bogliolo: Patologia**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.1328, 2000.

FRIEDEWALD, W.T.; LEVY, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin Chem.**, 18: 499-502, 1972.

FRIEDLAND, G.H.; KLEIN, R.S. Transmission of the human immunodeficiency virus. **N Engl J Med**, 317(18):1125-35, 1987

FUNK, E.; BRESSLER, F.J.; BRISSETT, A.E. Contemporary surgical management of HIV-associated facial lipoatrophy. **Otolaryngol Head Neck Surg**, 134(6):1015-22, 2006

GALLO, R.C.; SALAHUDDIN, S.Z.; POPOVIC, M.; SHEARER, G.M.; KAPLAN, M.; HAYNES, B.F.; PALKER, T.J.; REDFIELD, R.; OLESKE, J.; SAFAI, B.; ET, A.L. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. **Science**, 224(4648):500-3, 1984.

GANDHI, R.T.; WALKER, B.D. Immunologic control of HIV-1. **Annu. Rev. Med.** 53: 149-72, 2002.

- GINSBURG, G.S.; SMALL, D.M.; ATKINSON, D.- Microemulsions of phospholipids and cholesterol esters. Protein-free models of low-density lipoprotein. **J. Biol. Chem.**, 257:8216-8227, 1982.
- GOLDMAN, L.; BENNETT, J.C. **Cecil: Tratado de medicina interna**. 21 ed, v.II. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 210-717, 2001.
- GOLDSBY, R.A.; KINDT, T.J.; OSBORNE, B.A. **Kuby: Immunology**. 4 th. New York: W.H. Freeman, p. 478-494, 2000.
- GOODENOW, M.; HUET, T.; SAURIN, W.; KWOK, S.; SNINSKY, J.; WAIN-HOBSON, S. HIV-1 isolates are rapidly evolving quasispecies: evidence for viral mixtures and preferred nucleotide substitutions. **J Acquir Immune Defic Syndr**, 2(4):344-52, 1989
- GOTTLIEB, M.S.; SCHROFF, R.; SCHANKER, H.M.; WEISMAN, J.D.; FAN, P.T.; WOLF, R.A.; SAXON, A. Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. **N Engl J Med**, 305(24):1425-31, 1981.
- GRUNFELD, C.; FEINGOLD, K.R. Regulation of lipid metabolism by cytokines during host defense. **Nutrition**, 12(1 Suppl):S24-6, 1996.
- GRUNFELD, C.; FEINGOLD, K.R. The role of the cytokines, interferon alpha and tumor necrosis factor in the hypertriglyceridemia and wasting of AIDS. **J Nutr**, 122:749-53, 1992.
- GOU, L.; FU, M.; XU, Y.; TIAN, Y.; YAN, B.; YANG, L. Alterations of high-density lipoprotein subclasses in endogenous hypertriglyceridemia. **Am. Heart. J.** 150(5): 1039-45, 2005.
- HAASE, A.T. Population biology of HIV-1 infection: viral and CD4+ T cell demographics and dynamics in lymphatic tissues. **Annu Rev Immunol**, 17:625-56, 1999.
- HAMMER, S.M.; SAAG, M.S.; SCHECHTER, M.; MONTANER, J.S.; SCHOOLEY, R.T.; JACOBSEN, D.M.; THOMPSON, M.A.; CARPENTER, C.C.; FISCHL, M.A.; GAZZARD, B.G.; GATELL, J.M.; HIRSCH, M.S.; KATZENSTEIN, D.A.; RICHMAN, D.D.; VELLA, S.; YENI, P.G.; VOLBERDING, P.A. Treatment for adult HIV infection: 2006 recommendations of the International AIDS Society--USA panel. **Top HIV Med**, 14(3):827-43, 2006.
- HARLAN, L.M.; CHAN, M.A.; BENEDICT, S.H. Two different modes of costimulation predispose human T lymphocytes to differential responses in the presence of HDL or oxidized LDL. **Atherosclerosis**, 2006.
- HARPER, C.R.; JACOBSON, T.A. New perspectives on the management of low levels of high-density lipoprotein cholesterol. **Arch Intern Med**, 159(10):1049-57, 1999.

HENKEL, T.; MACHLEIDT, T.; ALKALAY, I.; KRONKE, M.; BEN-NERIAH, Y.; BAEUERLE, P.A. Rapid proteolysis of I kappa B-alpha is necessary for activation of transcription factor NF-kappa B. **Nature**, 365(6442):182-5, 1993.

HERBEIN, G.; COAQUETTE, A.; PEREZ-BERCOFF, D.; PANCINO, G. Macrophage activation and HIV infection: can the Trojan horse turn into a fortress? *Curr Mol Med*, 2(8):723-38, 2002.

HIRATA, R.D.C. **Efeitos da apolipoproteína B sobre o metabolismo lipídico através da utilização de emulsões semelhantes a fração lipídica da LDL**. Tese de doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. São Paulo, 1991.

HO, D.D.; NEUMANN, A.U.; PERELSON, A.S.; CHEN, W.; LEONARD, J.M.; MARKOWITZ, M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. **Nature**, 373(6510):123-6, 1995.

HUI, D.Y.; INNERARITY, T.L.; MAHLEY, R.W. Lipoprotein binding to canine hepatic membranes. Metabolically distinct apo-E and apo-B,E receptors. **J Biol Chem**, 256(11):5646-55, 1981

JAHOR, F.; GAZZARD, B.; PHILLIPS, G.; SHARPSTONE, D.; DELROSARIO, M.; FRAZER, M.E.; HEIRD, W.; SMITH, R.; JACKSON, A. The acute-phase protein response to human immunodeficiency virus infection in human subjects. **Am J Physiol**, 276(6 Pt 1):E1092-8, 1999.

JOHNSEN, S.H.; MATHIESEN, E.B.; FOSSE, E.; JOAKIMSEN, O.; STENSLAND-BUGGE, E.; NJOLSTAD, I.; ARNESEN, E. Elevated high-density lipoprotein cholesterol levels are protective against plaque progression: a follow-up study of 1952 persons with carotid atherosclerosis the Tromso study. **Circulation**, 26;112(4):498-504, 2005.

JONAS, A. Lecithin cholesterol acyltransferase. **Biochim Biophys Acta**, 1529: 245-256, 2000.

KÁDAR, A.; GLASZ, T. Development of atherosclerosis and plaque. **Cardiov. Surpey**. 9(2): 109-121, 2001.

KAPLAN, L.A., PESCE, A.J. **Clinical chemistry theory, analysis and correlation**. 3 ed. ST. Louis: Mosby, 1996.

KHOVIDHUNKIT, W.; KIM, M.S.; MEMON, R.A.; SHIGENAGA, J.K.; MOSER, A.H.; FEINGOLD, K.R.; GRUNFELD, C. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. **J Lipid Res**, 45(7):1169-96, 2004.

KONTUSH, A.; CHAPMAN, M.J. Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis. **Pharmacol Rev**, 58(3):342-74, 2006.

KOTLER, D.P. Nutritional alterations associated with HIV infection. **J. Acquir. Immune Defic. Sydr.**, 25(Suppl. 1): 581-7, 2000.

KUMMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. **Robbins & Cotran: Bases patológicas das doenças**. 7 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

LABRANCHE, C.C.; GALASSO, G.; MOORE, J.P.; BOLOGNESI, D.P.; HIRSCH, M.S.; HAMMER, S.M. HIV fusion and its inhibition. **Antiviral Res**, 50(2):95-115, 2001.

LAHTI, A.L.; MANNINEN, A.; SAKSELA, K. Regulation of T cell activation by HIV-1 accessory proteins: Vpr acts via distinct mechanisms to cooperate with Nef in NFAT-directed gene expression and to promote transactivation by CREB. **Virology**, 310(1):190-6, 2003.

LALEZARI, J.P.; HENRY, K.; O'HEARN, M.; MONTANER, J.S.; PILIERO, P.J.; TROTTIER, B.; WALMSLEY, S.; COHEN, C.; KURITZKES, D.R.; ERON, J.J. JR; CHUNG, J.; DEMASI, R.; DONATACCI, L.; DROBNES, C.; DELEHANTY, J.; SALGO, M. Enfuvirtide, an HIV-1 fusion inhibitor, for drug-resistant HIV infection in North and South America. **N Engl J Med**, 348(22):2175-85, 2003.

LANE, H.C.; MASUR, H.; EDGAR, L.C.; WHALEN, G.; ROOK, A.H.; FAUCI, A.S. Abnormalities of B-cell activation and immunoregulation in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. **N Engl J Med**, 309(8):453-8, 1983.

LEESON, C.P.; WHINCUP, P.H.; COOK, D.G.; MULLEN, M.J.; DONALD, A.E.; SEYMOUR, C.A.; DEANFIELD, J.E. Cholesterol and arterial distensibility in the first decade of life: a population-based study. **Circulation**, 101(13):1533-8, 2000.

LEVY, J.A.; KAMINSKY, L.S.; MORROW, W.J.; STEIMER, K.; LUCIW, P.; DINA, D.; HOXIE, J.; OSHIRO, L. Infection by the retrovirus associated with the acquired immunodeficiency syndrome. Clinical, biological, and molecular features. **Ann Intern Med**, 103(5):694-9, 1985.

LISCUM, L.; MUNN, N.J. Intracellular cholesterol transport. **Biochim Biophys Acta**, 1438(1):19-37, 1999.

LU, K.; LEE, M.H.; PATEL, S.B. Dietary cholesterol absorption; more than just bile. **Trends Endocrinol Metab**. 12(7): 314-320, 2001.

LUSIS, A.J. Atherosclerosis. **Nature**, 14;407(6801):233-41, 2000.

MACKNESS, M.I.; ARROL, S.; DURRINGTON, P.N. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. **FEBS Lett**, 286:152-4, 1991.

MARANHÃO, R.C. - Plasma kinetics and biodistribution of a lipid emulsion resembling low-density lipoprotein in patients with acute leukemia. **Cancer Res.**, 54:4660-6, 1994.

- MARANHÃO, R.C.; ROLAND, I.A.; TOFFOLETTO, O.; RAMIRES, J.A.; GON CALVES, R.P.; PILEGGI, F.- Plasma kinetic behavior in hyperlipidemic subjects of a lipidic microemulsion that binds to LDL receptors. **Lipids**, 32:627-33, 1997.
- MARANHÃO, R.C.; CESAR, T.B.; PEDROSO-MARIANI, S.R.; HIRATA, M.H.; MESQUITA, H.C.- Metabolic behavior in rats of a nonprotein microemulsion resembling LDL. **Lipids**, 28:691-6, 1993.
- MARCELO, A.; ZOPPÉ, M.; GIACCA, M. Multiple modes of transcriptional regulation by the HIV-1 tat transactivation. **Life**, 51: 175-181, 2001.
- McCUNE, J. M. The dynamics of CD4 T-cell depletion in HIV disease. **Nature**, 410: 974-979, 2001.
- MELCHIOR, J.C. Metabolic aspects of HIV: associated wasting. **Biomed Pharmacother.**, 51(10): 455-60, 1997.
- MICHIE, C.A.; MCLEAN, A.; ALCOCK, C.; BEVERLEY, P.C. Lifespan of human lymphocyte subsets defined by CD45 isoforms. **Nature**, 360(6401):264-5, 1992.
- MINGPENG, S.; ZONGLI, W. The protective role of high-density lipoproteins in atherosclerosis. **Exp Gerontol**, 34(4):539-48, 1999
- MIRANDA-FERNADEZ, C.; PULIDO, F.; CARRILLO, J.L., et al. Lipoprotein alterations in patients with HIV infection: relation with cellular and humoral immune markers. **Clin Chem Acta**, 274:63-70, 1998.
- MORLEY, J.E.; THOMAS, D.R.; WILSON, M.M. Cachexia: pathophysiology and clinical relevance. **Am. J. Clin. Nutr.**, 83(4): 735-43, 2006.
- NAOUM, F.A.; GUALANDRO, S.F.; LATRILHA, M.C.; MARANHÃO, R.C. Plasma kinetics of a cholesterol-rich microemulsion in subjects with heterozygous beta-thalassemia. **Am. J. Hematol.**, 77(4): 340-5, 2004.
- NAVAB, M.; VAN LENTEN, B.J.; REDDY, S.T.; FOGELMAN, A.M. High-density lipoprotein and the dynamics of atherosclerotic lesions. **Circulation**, 104(20):2386-7, 2001.
- NEVES, N.M.S. **Nutrição e doença cardiovascular**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 115, 1997.
- NIELSEN MH, PEDERSEN FS, KJEMS J. Molecular strategies to inhibit HIV-1 replication. **Retrovirology**. 16;2(1):10, 2005.
- NISHINO, M.; MALLOY, M.J.; NAYA-VIGNE, J.; RUSSELL, J.; KANE, J.P.; REDBERG, R.F. Lack of association of lipoprotein(a) levels with coronary calcium deposits in asymptomatic postmenopausal women. **J Am Coll Cardiol**, 35(2):314-20, 2000.

OHASHI, R.; MU, H.; WANG, X.; YAO, Q.; CHEN, C. Reverse cholesterol transport and cholesterol efflux in atherosclerosis. **QJM**, 98(12):845-56, 2005.

PANTALEO, G.; GRAZIOSI, C.; FAUCI, A. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. **N Engl J Med**, 328(5):327-35, 1993.

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.

PEAKMAN, M.; VERGANI, D. **Imunologia básica e clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 268-277, 1999.

PIATAK, M.J.R.; SAAG, M.S.; YANG, L.C.; CLARK, S.J.; KAPPES, J.C.; LUK, K.C.; HAHN, B.H.; SHAW, G.M.; LIFSON, J.D. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. **Science**, 259(5102):1749-54, 1993.

PINTO, L.B.; WAJNGARTEN, M.; SILVA, E.L.; VINAGRE, C.G.; MARANHÃO, R.C.- Plasma kinetics of a cholesterol-rich emulsion in young, middle-aged and elderly subjects. **Lipids**, 36(12):1307-13, 2001.

PRESTON, B.D.; POIESZ, B.J.; LOEB, L.A. Fidelity of HIV-1 reverse transcriptase. **Science**, 242(4882):1168-71, 1988.

PUK, C.G. **Tamanho de partículas e capacidade da HDL de receber colesterol e outros lipídios de uma lipoproteína artificial (LDE): estudos em pacientes com doença arterial coronária e em pacientes submetidos a transplante cardíaco**. Tese de doutorado. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2006.

PUK, C.G.; VINAGRE, C.G.; BOCCHI, E.; BACAL, F.; STOLF, N.; MARANHÃO, R.C. Plasma kinetics of a cholesterol-rich microemulsion in patients submitted to heart transplantation. **Transplantation**, 78 (8): 1177-81, 2004.

RADER, D.J. Pathophysiology and management of low high-density lipoprotein cholesterol. **Am J. Cardiol.**, 83: 22-24, 1999.

REDGRAVE, T.G.; MARANHÃO, R.C. -Metabolism of protein-free lipid emulsion models of chylomicrons in rats. **Biochim. Biophys Acta**, 835(1):104-12, 1985.

ROSOK, B.I.; BOSTAD, L.; VOLTERSVIK, P.; BJERKNES, R.; OLOFSSON, J.; ASJO, B.; BRINCHMANN, J.E. Reduced CD4 cell counts in blood do not reflect CD4 cell depletion in tonsillar tissue in asymptomatic HIV-1 infection. **AIDS**, 10(10):F35-8, 1996.

SANDE, M.A.; VOLBERDING, P.A. **The medical management of AIDS**. 6 th. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p. 3-34, 1999.

SANTA CATARINA, Secretaria de Estado da Informação. Diretoria de Vigilância Epidemiológica. **Situação da Epidemia de AIDS em Santa Catarina.** *www.dive.sc.gov.br*, 2007.

SANTOS, R.D. Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Guideline of Atherosclerosis Prevention from Atherosclerosis Department of Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq Bras Cardiol**,77 (Supl 3):1-48, 2001.

SARKAR, P.D.; T.M.S.; MADHUSUDHAN, B. Association between paraoxonase activity and lipid levels in patients with premature coronary artery disease. **Clin Chim Acta.** 373(1-2):77-81, 2006.

SENTI, M.; TOMAS, M.; FITO, M.; WEINBRENNER, T.; COVAS, M.I.; SALA, J.; MASIA, R.; MARRUGAT, J. Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**, 88(11):5422-6, 2003.

SERB, P.; YEUNG, S. HIV infection and the dentist. 1. The presence of HIV in saliva and its implications to dental practice. **Aust Dent J**, 39(2):67-72, 1994.

SERDAR, Z.; ASLAN, K.; DIRICAN, M.; SARANDOL, E.; YESILBURSA, D.; SERDAR, A. Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. **Clin Biochem**, 39(8):794-803, 2006.

SHERER, R. HIV, HAART, and hyperlipidemia: balancing the effects. **J Acquir Immune Defic Syndr.** 1;34 (Suppl 2): S123-9, 2003.

SHOR-POSNER, G.; BASIT, A.; LU, Y.; CABREJOS, C.; CHANG, J.; FLETCHER, M.; MANTERO-ATIENZA, E.; BAUM, M.K. Hypocholesterolemia is associated with immune dysfunction in early human immunodeficiency virus-1 infection. **Am J Med**, 94(5):515-9, 1993.

SIERRA, S.; KUPFER, B.; KAISER, R. Basics of the virology of HIV-1 and its replication. **J Clin Virol**, 34(4):233-44, 2005.

SIMONS, K.; IKONEN, E. How cells handle cholesterol. **Science**, 290(1): 1721-1726, 2000.

SLEASMAN, J.W.; GOODENOW, M.M. HIV-1 infection. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, 111: S583-S592, 2003.

SMITH, P.D.; OHURA, K.; MASUR, H.; LANE, H.C.; FAUCI, A.S.; WAHL, S.M. Monocyte function in the acquired immune deficiency syndrome. **Defective chemotaxis J Clin Invest**, 74(6):2121-8, 1984.

SPADA, C.; TREITINGER, A.; REIS, M.; MASOKAWA, I.Y.; VERDI, J.C.; LUIZ, M.C.; SILVEIRA, M.V.; OLIVEIRA, O.V.; MICHELON, C.M.; AVILA-JUNIOR, S.; GIL, D.O.; OSTROWSKY, S. An evaluation of antiretroviral therapy associated with alpha-tocopherol supplementation in HIV-infected patients. **Clin Chem Lab Med**, 40(5):456-9, 2002

- SPOSITO, A.C.; CAMELLI, B.; SARTORI, A.M.; RAMIREZ, J.A. The Lipoprotein Profile in HIV Infected Patients. **Braz J Infect Dis**, 1(6):275-283, 1997.
- STEIN, O.; STEIN, Y. Atheroprotective mechanism of HDL. **Atherosclerosis**, 144: 265-301, 1999.
- STEINER, G. Lipid intervention trials in diabetes. **Diabetes Care**, 23(Suppl 2): 49-53, 2000.
- STOPECK, A.T.; NICHOLSON, A.C.; MANCINI, F.P.; HAJJAR, D.P. Cytokine regulation of low density lipoprotein receptor gene transcription in HepG2 cells. **J Biol Chem**, 15;268(23):17489-94, 1993.
- SUDANO, I.; SPIEKER, L.E.; NOLL, G.; CORTI, R.; WEBER, R.; LUSCHER, T.F. Cardiovascular disease in HIV infection. **Am Heart J**, 151(6):1147-55, 2006.
- THIEBAUT, R.; DAUCOURT, V.; MERCIÉ, P.; EKOUEVI, D.K.; MALVY, D.; MORLAT, P.; DUPON, M.; NEAU, D.; FARBOS, S.; MARIMOUTOU, C.; DABIS, F. Lipodystrophy, metabolic disorders, and human immunodeficiency virus infection: Aquitaine Cohort, France, 1999. Groupe d'Epidemiologie Clinique du Syndrome d'Immunodeficiency Acquisée en Aquitaine. **Clin Infect Dis**, 31(6):1482-7, 2000.
- TREITINGER, A.; SPADA, C.; DA SILVA, L.M.; HERMES, E.M.; AMARAL, J.A.; ABDALLA, D.S. Lipid and acute-phase protein alterations in HIV-1 infected patients in the early stages of infection: correlation with CD4+ lymphocytes. **Braz J Infect Dis**. 5(4):192-9, 2001.
- TRONO, D. HIV accessory proteins: leading roles for the supporting cast. **Cell**, 82(2):189-92, 1995.
- TURNER, B.G.; SUMMERS, M.F. Structural biology of HIV. **J Mol Biol**, 285(1):1-32, 1999.
- UNAIDS-Joint United Nations Programme on HIV/AIDS, WHO-World Health Organization. AIDS Epidemic Update: special report on HIV/AIDS**, December, 2006.
- VALENTE, A.M.M.; REIS, A.F.; MACHADO, D.M.; SUCCI, R.C.M.; CHACRA, A.R. Alterações metabólicas da síndrome lipodistrófica do HIV. **Arq. Bras. Endocrinol Metab**. 49(6): 871-881, 2005.
- VAN GREEVENBROEK, M.M.; DE BRUIN, T.W. Chylomicron synthesis by intestinal cells in vitro and in vivo. **Atherosclerosis**, 141 (Suppl 1):S9-16, 1998.
- VOET, D.; VOET, J.G. **Biochemistry**. Canada: John Wiley & Sons, Inc., 1995.
- VON ECKARDSTEIN, A.; FISCHER, F.; SCHULTE, H.; TATARU, M.; KOHLER, E.; ASSMANN, G. Association of serum apolipoprotein A-I (but not high-density lipoprotein cholesterol) with healed myocardial infarction in men independent of serum insulin and C-peptide. **Am J Cardiol**, 88(7):723-6, 2001.
- WANG, M.; BRIGGS, MR. HDL: the metabolism, function, and therapeutic importance. **Chem Rev**, 104(1):119-37, 2004.

WEI, X.; DECKER, J.M.; WANG, S.; HUI, H.; KAPPES, J.C.; WU, X.; SALAZAR-GONZALEZ, J.F.; SALAZAR, M.G.; KILBY, J.M.; SAAG, M.S.; KOMAROVA, N.L.; NOWAK, M.A.; HAHN, B.H.; KWONG, P.D.; SHAW, G.M. Antibody neutralization and escape by HIV-1. **Nature**, 422(6929):307-12, 2003.

WEISS, R.A. Gulliver's travels in HIVland. **Nature Insight Perspective**, 410: 963-967, 2001.

WHEELER, D.A. Weight loss and disease progression in HIV infection. **AIDS Read**, 9(5): 347-53, 1999.

WHITTLE, H.; MORRIS, J.; TODD, J.; CORRAH, T.; SABALLY, S.; BANGALI, J.; NGOM, P.T.; ROLFE, M.; WILKINS, A. HIV-2-infected patients survive longer than HIV-1-infected patients. **AIDS**, 8(11):1617-20, 1994.

WU, Y.; MARSH, J.W. Gene transcription in HIV infection. **Microbes and Infection**, 5: 1023-1027, 2003.

WYNGAARDEN, J.B.; SMITH, L.H. **Cecil: Tratado de medicina interna**. 18 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.1573-80, 1990.

YAMANE, T.; MATSUMOTO, T.; NAKAE, I.; TAKASHIMA, H.; TARUTANI, Y.; TAMAKI, S.; HORIE, M. Impact of paraoxonase polymorphism (Q192R) on endothelial function in intact coronary circulation. **Hypertens Res. Jun**,29(6):417-22, 2006.

YAMASHITA, S.; MARUYAMA, T.; HIRANO, K.; SAKAI N.; NAKAJIMA, N.; MATSUZAWA, Y. Molecular mechanisms, lipoprotein abnormalities and atherogenicity of hyperalphalipoproteinemia. **Atherosclerosis**, 152(2):271-85, 2000.

YU, P.C.; CALDERARO, D.; LIMA, E.M.O; CARAMELLI, B. Terapia hipolipemiente em situações especiais: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 85(Supl. 5): 58-61, 2005.

ZANGERLE, R.; SARCLETTI, M.; GALLATI, H., et al. Decreased plasma concentrations of HDL cholesterol in HIV-infected individuals are associated with immune activation. **J Acquir Immune Defic Syndr**, 7:1149-56, 1994.

ANEXOS

ANEXO 1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

ANEXO 2. Termo de Consentimento

TERMO DE CONSENTIMENTO

Eu, _____,

após ser esclarecido verbalmente sobre a presente pesquisa “Alterações no Metabolismo Lipídico em Pacientes HIV soropositivos”, aceitei espontaneamente participar da mesma, concordando em fornecer amostras de meu sangue a fim de que sejam realizados os testes laboratoriais prescritos para avaliar o metabolismo lipídico e o sistema imune na infecção pelo HIV, os quais serão realizados no Laboratório do Hospital Universitário, sito no Campus da Universidade Federal de Santa Catarina, na cidade de Florianópolis e no Hospital das Clínicas – INCOR, na cidade de São Paulo. Embora os procedimentos de coleta de sangue sejam idênticos àqueles aplicados rotineiramente e que a medicação tenha sido prescrita pelos médicos, fui detalhadamente esclarecido a respeito dos procedimentos laboratoriais e clínicos a serem realizados. Estou ciente que, embora a terapia antirretroviral apresente efeitos colaterais, terei toda a atenção médica devida, desde que manifeste minha intenção de voltar a ser atendido. Sei também, que esta pesquisa é feita sem fins lucrativos para mim e para os pesquisadores, e que ela é confidencial, não sendo o meu nome objeto em qualquer de suas fases. Caso seja do meu interesse, poderei desistir de participar desta pesquisa, em qualquer etapa, precisando informar apenas aos médicos e pesquisadores a minha intenção neste sentido. Concordo com a publicação dos resultados obtidos na pesquisa e que, caso algum resultado seja de interesse clínico, eu tenha ao meu dispor todo o atendimento médico para a melhoria de minha saúde.

Estou consciente da importância desta pesquisa e de que receberei os resultados com explicação detalhada dos seus significados.

Florianópolis,...../...../.....

Telefone (s) para contato:

Endereço:

Assinatura

ANEXO 3. Tabela com as Médias de Contagem de Linfócitos T CD4 e T CD8 e Carga Viral dos Pacientes HIV Soropositivos

Tabela com a contagem de linfócitos T CD4, linfócitos T CD8 e Carga Viral dos pacientes HIV soropositivos.

Grupo HIV +	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
CD4	48	438	243	13	399	1301
CD8	48	1005	697	256	866	4753
Carga Viral	48	18312	51303	80	470	270000