



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

**POLIMORFISMO DA REGIÃO -675 DO GENE *SERPINE1*  
(*POLIMORFISMO 4G5G*) E SUA ASSOCIAÇÃO COM INIBIDOR 1 DA  
ATIVACÃO DO PLASMINOGENIO (*PAI-1*), SÍNDROME METABÓLICA  
E RISCO CARDIOVASCULAR EM PESSOAS VIVENDO COM  
HIV/AIDS: UM ESTUDO CASO-CONTROLE ANINHADO À COORTE.**

**Georgge Gomes Oliveira**

**Recife/PE**

**2015**

**Georgge Gomes Oliveira**



**POLIMORFISMO DA REGIÃO -675 DO GENE *SERPINE1* (*POLIMORFISMO 4G5G*) E SUA ASSOCIAÇÃO COM INIBIDOR 1 DA ATIVAÇÃO DO PLASMINOGENIO (*PAI-1*), SÍNDROME METABÓLICA E RISCO CARDIOVASCULAR EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS: UM ESTUDO CASO-CONTROLE ANINHADO À COORTE.**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Medicina Tropical.

**Orientador:** Prof.Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes, PhD.

**Co-orientador:** Prof.Dr. Demócrito De Barros Miranda Filho, PhD.

**Recife/PE**

**2015**

Catálogo na Publicação (CIP)  
Bibliotecária: Mônica Uchôa - CRB4-1010

O48p Oliveira, George Gomes.  
Polimorfismo da região -675 do gene serpine1 (polimorfismo 4G5G) e sua associação com inibidor 1 da ativação do plasminogenio (PAI-1), síndrome metabólica e risco cardiovascular em pessoas vivendo com HIV/AIDS: um estudo caso-controle aninhado à coorte / George Gomes Oliveira. – 2015.

171 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Ricardo Arraes de Alencar Ximenes.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical. Recife, 2015.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Inibidor 1 de ativador de plasminogênio - PAI-1. 2. Polimorfismo genético. 3. Síndrome X metabólica. 4. HIV. 5. Framingham. I. Ximenes, Ricardo Arraes de Alencar (Orientador). II. Título.

618.9883

CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2016-079)



Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)  
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO (PROPESQ)  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS)  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL (PPGMEDTROP)

**RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DO DOUTORANDO**

**GEORGE GOMES OLIVEIRA**

No dia 27 de abril de 2015, às 14h00, na Sala Prof. Murillo La Greca - no 3º. and. do CCS/UFPE, os Membros Doutores: a Profa. Dra. Heloisa Ramos Lacerda de Melo (Presidente da Banca, UFPE), o Prof. Dr. Luydson Richardson Silva Vasconcelos (UPE), a Profa. Dra. Cristiane Campello Bresani (IMIP), a Profa. Dra. Zulma Maria de Medeiros (CPqAM/FIOCRUZ) e o Prof. Dr. Luiz Cláudio Arraes de Alencar (UFPE), componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, arguíram o doutorando GEORGE GOMES OLIVEIRA sobre a sua Tese intitulada "POLIMORFISMO DA REGIÃO -675 DO GENE SERPINE1 (POLIMORFISMO 4G5G) E SUA ASSOCIAÇÃO COM INIBIDOR 1 DA ATIVAÇÃO DO PLASMINOGÊNIO (PAI-1), SÍNDROME METABÓLICA E RISCO CARDIOVASCULAR E PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS: UM ESTUDO CASO-CONTROLE ANINHADO À COORTE", o qual foi orientado pelo Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes (UFPE) e coorientado pelo Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho (UPE). Ao final da arguição de cada membro da Banca Examinadora e resposta do doutorando, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

A seguir, as menções fornecidas aos membros da Banca Examinadora:

Prof. Dr. Luydson Richardson Silva Vasconcelos

Profa. Dra. Cristiane Campello Bresani

Profa. Dra. Zulma Maria de Medeiros

Prof. Dr. Luiz Cláudio Arraes de Alencar

---

*Profa. Dra. Heloisa Ramos Lacerda de Melo*

---

*Prof. Dr. Luydson Richardson Silva Vasconcelos*

---

*Profa. Dra. Cristiane Campello Bresani*

---

*Profa. Dra. Zulma Maria de Medeiros*

---

*Prof. Dr. Luiz Cláudio Arraes de Alencar*



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

**REITOR**

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Francisco de Souza Ramos

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Nicodemos Teles Pontes Filho

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM MEDICINA TROPICAL**

Valdênia Maria Oliveira de Souza

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM MEDICINA TROPICAL**

Vera Magalhães de Silveira

**CORPO DOCENTE PERMANENTE**

Ana Lúcia Coutinho Domingues

Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Fábio André dos Santos Brayner

Heloísa Ramos Lacerda de Melo

Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

Marli Tenório Cordeiro

Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Valdênia Maria Oliveira de Souza

Vláudia Maria Assis Costa

**CORPO DOCENTE COLABORADOR**

Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque

Rejane Pereira Neves

*À minha esposa – companheira, cúmplice, conselheira e exemplo de ética, sapiência na conduta profissional e incentivadora...  
à minha filha Lara, sonho realizado e em desenvolvimento, mantenedora da experiência de ser pai, por sua compreensão, disponibilidade contínua em querer ajudar e digitar esta tese.*

*À minha mãe, eterna entusiasta, eterna torcida dos filhos, por sua generosidade, crença e apoio.*

*À meu pai, por seus valores, seus ensinamentos, sua disponibilidade e deixar-me seguir seus passos no arar da terra, no cuidar das plantas e animais, no construir de alicerces e escolher os frutos da terra. À seu incansável e perene esforço*

*À minha irmã, meu irmão, tia Bá, Vó Josefa e sogros que sonharam juntos e estiveram sempre comigo nesta jornada – verdadeiros companheiros.*

*E aos mestres acadêmicos que me acolheram e doaram de si para minha formação: em destaque Dra. Lusinete Acirole, Luiz de Carvalho, Antonio Carlos Mariz, Ricardo Ximenes, Demócrito Miranda, Oliane Magalhães e Robison Cavalcanti.*

*A minha eterna gratidão à todos!*

## **AGRADECIMENTOS**

*Ao Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes, por sua alegria, sapiência, paz e em ensinar a andar, com simplicidade sempre disponível à fornecer ferramentas e incentivo à autonomia. Verdadeiro mestre, exemplar de competência e ética.*

*Obrigado pela disponibilidade de seu concorrido tempo.*

*Ao Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho, pela contribuição na elaboração do projeto e nas questões a serem respondidas. Por suas assertivas colocações e transparência. Por sua polida e cirúrgica orientação. Por sua acolhida e amizade.*

*Ao Prof. Dr. Francisco Alfredo Bandeira e Farias, pela doação de conhecimento e atenção.*

*Aos coordenadores do grupo de pesquisa em HIV/Aids de Pernambuco, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Heloísa Ramos Lacerda de Melo, Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes e Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho, e todos os membros que a ele pertencem pela parceria e credibilidade. Em particular, agradeço a Ulisses Montarroyos pela grande ajuda nestes momentos finais.*

*À direção do Hospital Universitário Oswaldo Cruz e à direção do Hospital Correia Picanço, por permitir a realização da pesquisa e participar na realização dos exames necessários.*

*À inigualável, amiga, humilde, disponível, despretensiosa, admirável e contínua presença do Dr. Luiz Cláudio Arraes de Alencar, com quem encontrei reiteradas vezes nesta jornada de regressar ao sonho de seguir o academicismo. Meus sinceros e fraternos elogios e reconhecimentos por mostrar interesse na minha progressão e voluntariamente se ofertar à ajudar-me, mesmo não tendo obrigação nenhuma; mesmo em meio à tantas responsabilidades e tendo tão disputada agenda. Não obstante, devo dizer que em grande monta a conclusão deste trabalho é fruto de sua doação amiga, deste não comedimento em ajudar, deste modelo*

exemplar desta maneira altruística de relacionar-se: sendo sem esperar ter. Minha eterna gratidão. De todos os momentos da graduação, você contribuiu com a melhor delas. Conseguiu em um dia o que não conseguimos em dois anos. Parabéns, Lula!

*Aos Drs. Ricardo Sobhie Diaz e Maria Cecília Sucupira Araripe, por sua hospitalidade e prestatividade em tornar possível a conclusão deste projeto, cedendo o espaço, recursos e técnicas do Retrovirology Laboratory Infectious Diseases Division Federal University of São Paulo, Brazil.*

*Às mestres Michelle Camargo e Marina Castilhos Souza Umaki que cederam seu tempo, seu saber e por 10 dias estiveram dedicadas para me auxiliar e possibilitar que em tempo fosse possível concluir os experimentos analíticos. À mestres Juliana Galinskas por sua abnegação para com o seu trabalho para me mostrar como analisar resultados de seqüenciamento gênico.*

*Aos professores que fazem parte da pós-graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco, pelas horas de aprendizado e motivação. Agradeço pela oportunidade de ter entrado em contato*

*Ao Dr. Valter Kominsky, mestre por excelência na arte de ser médico, companheiro, amigo, credor de projetos e sonhos dos jovens que a ele se achegam. Por estar sempre com um sorriso no rosto e sempre compreender e incentivar a conclusão deste projeto. Por plantar sementes e perseverar. Por estar sempre com um olhar focado e além... para as possibilidades do que melhor podemos ser.*

*À minha esposa-amiga-companheira, sempre presente em todo o percurso da pesquisa clínica, compartilhando o conhecimento e ajudando a ultrapassar obstáculos. A sua postura, abdicação, doação de seus talentos e disponibilidade de ser... algumas vezes âncora... ou porto calmo. Sem sombra de dúvida, não poderia ter encontrado pessoa melhor para seguir junto no projeto de vida.*

*À Lara, agradeço por você estar comigo em todos os momentos, e fazer com que eu não desista. Agradeço pelo sorriso diário, pelo carinho e por cada brincadeira, tão importante para o meu descanso. Obrigado por ter estado ao meu lado nos*

*momentos difíceis e nas horas que demonstrei total alegria com a vida acadêmica. Obrigado por continuar sendo o meu maior incentivo para trilhar este caminho e para seguir em frente, firme e confiante, no intuito de me tornar um bom exemplo.*

*À toda a família, em especial à Tia Bá - que doou seu tempo e carinho cuidando da pequena Lara - tornando possível o trabalhar com afinco nesse projeto. Não posso deixar de registrar que lhe sou eternamente grato, por comprar os meus sonhos e os dos meus irmãos; por ter se desdobrado por anos para ajudar aos meus pais na nossa formação e realização; por nos proporcionar o contato com a filosofia, a literatura, a música e a arte; pelo seu exemplo de retidão e de zelo pelo trabalho. Que embora não tendo nos gerado, sempre foi peça essencial na tutoria paternal minha e de meus irmãos. Obrigado por ter sido, de certa forma mantenedora de nossos caminhos.*

*À todas as pessoas que, mesmo não citadas nominalmente, direta ou indiretamente contribuíram de alguma maneira para que este trabalho pudesse ser realizado.*

*À Deus que, com sua presença, me mostrou o caminho sendo a luz que iluminava e guiava, a força que me erguia e sustentava, fazendo assim dos obstáculos um incentivo e das dificuldades a força para que este sonho se tornasse realidade.*

*O vento é o mesmo, mas sua resposta é diferente  
em cada folha.*

(Cecília Meireles)

## RESUMO DA TESE

Estudos recentes mostram que a síndrome metabólica (SM) é freqüente nas pessoas vivendo com HIV/AIDS (PLWHA). A importância na identificação da SM baseia-se no aumento do risco em cinco vezes de desenvolver diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e em duas vezes de apresentar doença cardiovascular (DCV) trombóticas, embora os fatores de hipercoagulabilidade não estejam incluídos nos critérios de definição da síndrome. A SM é caracterizada pela presença concomitante de fatores reconhecidamente aterogênicos em um mesmo indivíduo. A freqüência de DCV em PLWHA vem aumentando ao longo dos anos. O *PAI-1* é uma proteína importante na cascata de fibrinólise e seu aumento está associado ao estado de hipercoagulabilidade. Sua regulação depende de fatores genéticos, dentre eles, destaca-se o polimorfismo 4G5G do gene *SERPINE1*. A participação de substâncias protrombóticas na doença cardiovascular é conhecida em pessoas sem HIV, porém menos elucidada em PLWHA. Diante disto o objetivo deste trabalho foi determinar a freqüência do polimorfismo 4G5G em pessoas que vivem com HIV e verificar se o polimorfismo tem associação com a expressão do *PAI-1* plasmático, com SM e com risco cardiovascular (RCV) estimado pelo escore de Framingham. Também objetivamos verificar associação dos níveis de *PAI-1* com RDC e com SM. Para tanto foi desenvolvido estudo transversal para determinação da freqüência do polimorfismo 4G5G do *PAI-1* e estudo tipo caso-controle para verificar associações entre polimorfismos com níveis plasmáticos de *PAI-1* com SM e depois com RCV. Também foram testadas associações com fatores de risco tradicionais. Para primeiro estudo a amostra foi 185 pessoas sorteadas de um grupo de 2074 participantes da *Cohort AIDS-PE Study Group*. A prevalência de heterozigose foi de 86,8% e homozigose para 4G4G de 4,4%. A média de idade foi de 40,5 (DP  $\pm$  9,9 anos). A mediana de *PAI-1* ativado foi de 13,6 ng/mL (IQ: 10,8-17,5). A freqüência de SM foi de 37,9% e de dislipidemia de 82,4%. Não encontramos associação do polimorfismo com os níveis plasmáticos de *PAI-1*, nem com SM. Para o segundo estudo houve perda de 23, restando 162 pessoas das quais 72,8% era do sexo feminino e a média de idade foi de 40 anos. A freqüência de RDCV estimado  $> 10\%$  foi de 10,5%. O alelo 4G esteve presente em 91,0% das pessoas (genótipos 4G4G e 4G5G). Não houve associação entre polimorfismo e RDCV estimado  $> 10\%$  (OR=0,6; IC95% 0,1 – 3,7), nem diferença dos níveis de *PAI-1* em relação ao RDCV estimado (RCV $>10\%$  14,6 ng/ml x RDCV  $< 10\%$  14,1 ng/ml;  $p=0,9$ ). Hipercolesterolemia foi associada com genótipo 5G5G do polimorfismo (OR: 3,3; IC95%: 1,25 – 10) e com níveis plasmáticos mais elevados do *PAI-1* (colesterol não HDL (CNHDL)  $> 130$  mg/dl = 15,6 ng/ml versus CNHDL  $< 130$  ng/ml = 13,8 ng/ml;  $p=0,04$ ). Nesse estudo, encontramos alta prevalência do heterozigose para o polimorfismo 4G5G em pessoas vivendo com HIV/AIDS, no nordeste do Brasil. Entretanto, não encontramos associação entre o polimorfismo estudado com níveis plasmáticos de *PAI-1* nem com SM. Também não verificamos associação do polimorfismo 4G5G do *PAI-1* nem dos níveis plasmáticos de *PAI-1* com RCV $>10\%$  pelo escore de Framingham, mas houve com hipercolesterolemia.

**Palavras-chave:** Inibidor 1 de ativador de plasminogênio (*PAI-1*) • Polimorfismo Genético • Síndrome X metabólica • HIV • Framingham.

## ABSTRACT

Recent studies show that the metabolic syndrome (MS) is common in people living with HIV / AIDS (PLWHA). The importance of identifying MS is based on an increased risk of developing fivefold type 2 diabetes mellitus (T2DM) and twice presenting cardiovascular disease (CVD) thrombotic, although hypercoagulability factors are not included in the definition of criteria syndrome. MS is characterized by the concomitant presence of known atherogenic factors in the same individual. The frequency of CVD in PLWHA has increased over the years. The PAI-1 is an important protein in the fibrinolytic cascade and its increase is associated with the hypercoagulable state. Its regulation depends on genetic factors, among them stands out the 4G5G polymorphism *SERPINE1* gene. The participation of prothrombotic substances in cardiovascular disease is known in people without HIV, but less elucidated in PLWHA. In view of this the objective of this study was to determine the frequency of 4G5G polymorphism in people living with HIV and verify that polymorphism is associated with the expression of PAI-1 plasma with MS and cardiovascular risk (RCVD) estimated by the Framingham score . We aim to also assess the association of PAI- 1 levels with CVD and with MS. For this cross-sectional study was developed to determine the frequency of 4G5G polymorphism of PAI- 1 and case-control study to examine associations between polymorphisms and plasma levels of PAI-1 with SM and then RCVD. Associations were also tested with traditional risk factors. For the first study sample was randomly selected 185 people of a group of participants 2074 of AIDS-PE Cohort Study Group. The prevalence of heterozygosity was 86.8% and homozygous for 4G4G 4.4%. The average age was 40.5 (SD  $\pm$  9.9 years). The PAI-1 activated median was 13.6 ng/mL (CI: 10.8 to 17.5). The frequency of MS was 37.9% and 82.4% dyslipidemia. We did not find polymorphism association with plasma levels of PAI-1 or with SM. For the second study, there was loss of 23, leaving 162 people of which 72.8% were female and the average age was 40 years. The frequency of RDCV estimated > 10% was 10.5%. The 4G allele was present in 91.0% of people (4G4G and 4G5G genotypes). There was no association between polymorphism and RDCV estimated > 10% (OR = 0.6; 95% CI 0.1 to 3.7), or difference of PAI-1 levels relative to estimated RDCV (RCV > 10% 14.6 ng / ml x RDCV <10% 14.1 ng/ml;  $\rho$  = 0.9). Hypercholesterolemia was associated with 5G5G genotype polymorphism (OR: 3.3; 95% CI: 1.25 to 10) and higher plasma levels of PAI-1 (non-HDL cholesterol (CNHDL) > 130 mg / dl = 15.6 ng/ml CNHDL versus <130 ng/ml = 13.8 ng/ ml;  $\rho$  = 0.04). In this study, we found a high prevalence of heterozygous for the polymorphism 4G5G in people living with HIV/AIDS, in northeastern Brazil. However, we found no association between the polymorphism studied with plasma levels of PAI-1 or with SM. Nor do we find polymorphism association 4G5G of PAI-1 or plasma levels of PAI-1 with RCV > 10% by Framingham score, but happened to hypercholesterolemia.

**Keywords:** • Plasminogen Activator Inhibitor 1 (PAI-1) • Polymorphism, Genetic • Metabolic syndrome X • HIV • Framingham .

## LISTA DE FIGURAS

### TESE

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
<b>Figura A</b>	Tabela com critérios para definição de Síndrome Metabólica (SM) segundo AHA/ NHLBI, IDF e JIS (cedida por GELENSKE, T, 2010).	25
<b>Figura B</b>	Representação esquemática do Modelo Teórico	35
<b>Figura C</b>	Fluxograma da Pesquisa	44

### ARTIGO 1

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
<b>Figura 1</b>	Níveis de <i>PAI-1</i> ativado de acordo com os genótipos do <i>PAI-1</i> em pessoas vivendo com HIV/AIDS.	57

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

<b>Tabelas</b>	<b>Página</b>
<b>Tabela 1</b> Características clínicas e laboratoriais da população estudada de acordo com a presença de SM.	54
<b>Tabela 2</b> Freqüência de polimorfismo 4G5G do <i>PAI-1</i> em pessoas com e sem SM vivendo com HIV.	55
<b>Tabela 3</b> Média, desvio padrão e freqüência de variáveis biológicas, clínicas, hábitos de vida, indicadores metabólicos, relacionadas ao HIV e à TARV, de acordo com o polimorfismo 4G5G do <i>PAI-1</i> em pessoas vivendo com HIV/AIDS.	56
<b>Tabela 4</b> Freqüências dos genótipos do <i>PAI-1</i> e de medianas do <i>PAI-1</i> ativado de acordo com a presença de SM em pessoas vivendo com HIV/AIDS.	58

## ARTIGO 2

<b>Tabelas</b>		<b>Página</b>
<b>Tabela 1</b>	Características gerais da população estudada	71
<b>Tabela 2</b>	Freqüência do polimorfismo 4G5G do <i>PAI-1</i> e níveis plasmáticos de <i>PAI-1</i> ativado em pessoas vivendo com HIV (PLWHA) com risco para doenças cardiovasculares (RDCV) baixo e elevado de acordo com escore de Framingham.	72
<b>Tabela 3</b>	Associação do polimorfismo 4G5G do <i>PAI-1</i> com risco para doenças cardiovasculares (RDCV), hipertensão, diabetes mellitus, tabagismo, colesterol não HDL (CNHDL) e razão triglicérido/C-HDL em pessoas vivendo com HIV/AIDS.	73
<b>Tabela 4</b>	Associação de <i>PAI-1</i> ativado com risco para doenças cardiovasculares (RDCV), hipertensão, diabetes mellitus, tabagismo, colesterol não HDL (CNHDL) e razão triglicéridos/C-HDL em pessoas vivendo com HIV/AIDS	74

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

### Abreviaturas

ARV	antirretrovirais
AVE	Acidente Vascular encefálico
C-HDL	Colesterol – Lipoproteína de Alta Densidade
C-LDL	Colesterol – Lipoproteína de Baixa Densidade
CNHDL	Colesterol Não C-HDL
DCV	Doença Cardio Vascular
DM2	Diabetes <i>Melitos</i> tipo 2
G	Guanina
HAS	Hipertensão Arterial Sistólica
ICAM	Molécula de adesão intercelular
IL	Interleucina
IC95%	Intervalo de Confiança de 95% dos eventos observados não ter sido obra do acaso.
IM	Infarto do Miocárdio
IMC	Índice de Massa Corpórea
IQ	Intervalo Interquartil
OR	Razão de chances
<i>PAI-1</i>	Inibidor da ativação do plasminogênio 1
PCRus	Proteína C reativa ultra sensível
PLWHA	Pessoas vivendo com HIV/AIDS
RDCV	Risco de Doença Cardio Vascular
RI	Resistência Insulínica
SM	Síndrome metabólica
SM +	Síndrome Metabólica presente
svCAM	Molécula de adesão endotelial vascular solúvel
TARV	Terapia antirretroviral
TG	Triglicerídeos
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral $\alpha$
tPA	Plasminogênio tecidual
uPA	Ativador do Plasminogênio tecidual Uroquinase

## SUMÁRIO

<b>1 APRESENTAÇÃO</b>	19
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b>	22
2.1 Introdução	22
2.2 Síndrome metabólica	23
2.3 Polimorfismo 4G5G	26
2.4 Síndrome Metabólica em pessoas vivendo com HIV/AIDS	29
2.5 Síndrome Metabólica e PAI-1	30
2.6 <i>PAI-1</i> em Pessoas Vivendo com HIV/AIDS	32
2.7 <i>PAI-1</i> e Risco Cardiovascular estimado por <i>Framingham</i>	32
<b>3 MODELO TEÓRICO</b>	34
<b>4 HIPÓTESE DO ESTUDO</b>	36
<b>5 PERGUNTAS CONDUTORAS</b>	36
<b>6 OBJETIVOS</b>	37
6.1 Geral	37
6.2 Específicos	37
<b>7 MATERIAL E MÉTODOS</b>	38
7.1 Desenho do estudo	38
7.2 Local do estudo	39
7.3 População do estudo	39
7.4 Categorização das variáveis	39
7.4.1 Variáveis dependentes	39
7.4.2 Variáveis de exposição	41

7.4.3	Variáveis potencialmente associados à síndrome metabólica	42
7.4.4	Variáveis consideradas para ajuste do modelo final	42
7.5	Operacionalização da pesquisa	43
7.5.1	Coleta e processamento de dados	43
7.5.2	Dosagens séricas, plasmáticas e pesquisa de Polimorfismos	44
7.6	Considerações éticas	46
7.7	Análise estatística	47
7.7.1	Do estudo para determinar as frequências de polimorfismo 4G5G e verificar sua associação com <i>PAI-1</i> plasmático e SM	47
7.7.2	Do estudo para verificar associação do polimorfismo 4G5G e do inibidor do ativador do plasminogênio 1 plasmático ativado com fatores de risco cardiovascular em pessoas vivendo com HIV/AIDS	48
<b>8</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>49</b>
8.1	Artigo 1 - Frequência de Polimorfismos na Região -675 Promotora do Inibidor do Ativador do Plasminogênio 1 ( <i>PAI-1</i> ) e Sua Associação Com Síndrome Metabólica em Pessoas vivendo com HIV/AIDS	49
8.2	Artigo 2 - Associação do Polimorfismo 4G5G do Inibidor do Ativador do Plasminogênio 1 ( <i>PAI-1</i> ) e do <i>PAI-1</i> Ativado com Fatores de Risco Cardiovascular em Pessoas vivendo com HIV/AIDS	65
<b>9</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>82</b>
<b>10</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES</b>	<b>83</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>84</b>

<b>APÊNDICES</b>	97
Apêndice A – Termo de Consentimento Livre Esclarecido	98
Apêndice B – Questionário da Pesquisa	99
Apêndice C – Formulário da Pesquisa	108
Apêndice D – <u>VERSÃO COMPLETA DO ARTIGO 1 EM INGLÊS</u>	127
Apêndice E – <u>VERSÃO COMPLETA DO ARTIGO 2 EM INGLÊS</u>	146
<b>ANEXOS</b>	164
Anexo A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	165
Anexo B – CARTA DE ANUÊNCIA DO HOSPITAL CORREIA PIKANÇO	166
Anexo C – Escore de Risco de Framingham para Doença Cardio Vascular	167
ANEXO D – Comprovante de Submissão de Artigo 1	168
ANEXO E – Comprovante de Submissão de Artigo 2	170

## 1 APRESENTAÇÃO

O desejo pela pesquisa vive em mim desde a primeira infância no qual cada ato de minha lembrança se constituía em processo investigativo. A pré-puberdade foi marcada pelo estudo de comportamentos observacionais, depois experimentais. No início da puberdade manipulava químicos e administrava-os em cobaios para ver os efeitos. O ensino, não estava em minha perspectiva até que na graduação deparei-me com mestres que viviam suas pesquisas com amor e expiravam-nas sistematicamente dando sentido aos saberes curriculares e vislumbrando a aplicabilidade para benefício social. Naquele momento nascia o desejo profundo de ser e estar pesquisador e tutor. Mas as estiagens do meu sertão me forçaram à labuta mercadológica, distante do academicismo. O sonho nunca apagara. As estiagens só me levavam à lugares distantes tal como a asa branca que migra na estiagem e volta após a chuva. Ávido, aguardava e na primeira oportunidade voltei ao mundo acadêmico e deixei-me conduzir pelos Drs. Luiz Bezerra de Carvalho e Dra. Lusinete Aciole para ser orientado por Dra. Helen Khoury – incrível empreendedora e conjugadora das pesquisas à prática. A continuidade teve outra pausa, lastreada pelo sonho de constituir família e um lar. Onde não há abastados, cônjuges lastreiam os sonhos do outro para contentamento do amado. Planejamos alternar, eu já mestre trabalharia para que minha esposa se graduasse mestre. Depois revezaríamos o doutorado, mas a oportunidade veio para ambos e abraçamos juntos. Retomar a carreira acadêmica era reencontrar meu primeiro amor: a busca pelas razões e associações naturais no processo da vida. Ingressar em uma área multidisciplinar com um trabalho que agregasse a matemática, a virologia, a genética e a patofisiologia foi arrebatador e desafiante. Tive a graça de conhecer Dr. Demócrito de Miranda e Dr. Ricardo Ximenes que me convidaram a ingressar no projeto e abraçar o ramo pertinente à biomedicina – detecção de polimorfismo genético, sua prevalência e associação com componente da cascata de coagulação – o *PAI-1* –, com a síndrome metabólica e com o risco cardiovascular definido pelo *Score de Framingham*.

Os avanços tecnológicos entre 1996 e 2015 foram incalculáveis tanto no campo das análises de DNA como na proteômica. Antes de ser convidado,

entretanto, pude acompanhar minha esposa, ajudar nos trabalhos de entrevista e organização de dados coletados, ainda no nascimento da coorte, numa equipe admirável e louvável, o *Cohort AIDS-PE Study Group*. Em 2010, iniciava os trabalhos oficializados no grupo, tendo o prazer de conhecer cada integrante e me perceber parte de um conjunto que sonhei desde muito cedo. O trabalho era desafiador e os resultados uma incógnita, mas desafios são molas propulsoras e incógnitas são alimento para alma prosseguir eufórica.

Minha experiência com biologia molecular tinha sido durante a graduação, enquanto estagiário da Micologia, sob tutoria da profa. Lusinete. Em 1996 participava de extração, purificação, amplificação e corrida eletroforética de DNA – momento em lesávamos as células com trituração em almofariz.

Assumir a idéia, desenvolvê-la e planejar sua concretização... foi um desafio! Tendo recursos parcos, a busca de colaboração seria fundamental. Longe de ser vista como fatores retardantes, fora vislumbrada como oportunidades para enriquecer o grupo e este que vos relata. Foi aí que surgiram o Dr. Ricardo Diaz e o Centro de Genomas e Centro de Retrovirologia da UNIFESP, as professoras Teresa Cartaxo e Maria do Socorro Vieira (biologia molecular da UPE). Esta nos acolheu, mas nos apresentou o Dr. Luydson Vasconcelos (laboratório de Biologia Molecular da IFP), na ocasião aluno de pós-graduação (não imaginávamos que futuramente viria a ser grande colaborador para consecução deste projeto cedendo-nos espaço para toda a fase pré-analítica do genoma). Todos ao serem contactados foram acolhedores empolgados. À frente, desbravamentos a viver, mas os obstáculos não me afugentam, mas me encantam, pois meu desejo e paixão em superá-los são contínuos.

No início tínhamos alguns saberes, mas estes não contemplavam pessoas vivendo com HIV/AIDS, daí surgiram as perguntas condutoras: A frequência dos genótipos da *SERPINE1* no grupo de pessoas vivendo com HIV/AIDS em Pernambuco seria semelhante ao encontrados em alguma das etnias estudadas até o momento? A síntese de *PAI-1* plasmático ocorria na mesma proporção aos genótipos que nas etnias estudadas? E o risco cardiovascular estaria associado semelhantemente à algumas das etnias estudadas ou seria distinto, principalmente, por já ser sabido que os ARVs empregados na terapia antirretrovirais influenciam no metabolismo contribuindo com a elevação de resistência insulínica e com

dislipidemia? Daí uma decisão: escolhemos o Escore de Framingham para determinação do risco de evento cardiovascular em 10 anos.

Muito conhecimento científico já foi aditado durante esses últimos cinco anos. O olhar do projeto de pesquisa desenhado para esse doutorado, já não é exatamente o mesmo. Algumas “perguntas condutoras” já foram respondidas, mas outras novas surgiram, como o Escore de Framingham poderia ser aplicado para menores que 50 anos, haja vista que em pessoas vivendo com HIV/AIDS o estresse oxidativo e envelhecimento metabólico ocorre em maior monta que os não infectados? Ou seria melhor desenvolver um escore próprio ou elencar outros indicadores moleculares para prever o risco cardiovascular? Acredito que as respostas aqui encontradas ponderam o conhecimento difundido e despertam o olhar para novas incógnitas que se respondidas, com certeza, trarão luz à processos e quiçá, sirvam à assistência médica para percepção de riscos de DCV num futuro próximo. Esta jornada transformou a minha vida, acresceu-me ferramentas que não conhecia e, ou conhecendo não tinha domínio de como aplicá-las para desenvolvimento de pesquisas, como foi com o seqüenciamento gênico que empregamos na UNIFESP para confirmação dos achados de PCR em gel de eletroforese. Não discorro sobre a apropriação do software *Epiinfo* e *Stata* que antes eram apenas conhecidas de nome, mas agora me sinto seguro para usá-las, portanto feliz já que vislumbro a empregabilidade em meu cotidiano.

Outras perguntas foram erigidas, dados foram colecionados, mas serão assuntos para outras publicações. Ao que posso finalizar dizendo que pretendo continuar “pesquisador”, tanto no grupo de pesquisa que já estou inserido, quanto na área de biologia molecular e epidemiologia, com a qual venho trabalhando. Nesta jornada um único penar: não poder ter vivido dedicado exclusivamente à pesquisa e ao ensino. Mas tudo tem seu tempo e propósito, assim creio e me contento.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Introdução

Após o advento da terapia antirretroviral potente (TARV), a história natural da infecção pelo HIV sofreu importantes mudanças. Houve aumento da sobrevivência e do tempo de infecção livre de doenças oportunistas. Além disso, é orientação atual de que toda pessoa vivendo com HIV deva iniciar TARV, independente da condição clínica e laboratorial (SBDST, 2015) levando a longos períodos de exposição às drogas antirretrovirais (CANDIANI *et al*, 2007). Em paralelo aos benefícios da TARV, diversas alterações metabólicas têm sido relacionadas à infecção crônica pelo HIV e ao seu tratamento, incluindo a síndrome metabólica (SM) (ADDY *et al*, 2006).

Nos últimos anos, alguns estudos mostraram que a SM é freqüente nas pessoas vivendo com HIV/AIDS, com estudos mostrando uma variação entre 17 e 45% (Gazzaruso *et al*, (2002), Jericó *et al* (2005), Troian *et al* (2005). Os mecanismos que fazem as pessoas vivendo com HIV/AIDS mais susceptíveis a esta síndrome vem sendo estudados, mas não estão completamente esclarecidos. Estudos sugerem que a TARV, fatores relacionados à infecção pelo HIV e fatores individuais estão envolvidos (ALVAREZ *et al*, 2010; WANG *et al*, 2008; ADDY *et al*, 2006).

SM e seus fatores determinantes isoladamente estão associados a doença cardiovascular (DCV) em indivíduos não infectados pelo HIV (ABRAHAM *et al*, 2007). **Não está claro se a consequência clínica da SM em pessoas vivendo com HIV (PLWHA) seja idêntica à da população soronegativa.**

## 2.2 Síndrome Metabólica

A síndrome metabólica (SM) é caracterizada pela presença concomitante de fatores reconhecidamente aterogênicos em um mesmo indivíduo (GRUNDY, 2004). A importância na identificação da SM baseia-se no aumento do risco em cinco vezes de desenvolver diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e em duas vezes de apresentar doença cardiovascular (DCV) trombótica, embora os fatores de hipercoagulabilidade não estejam incluídos nos critérios de definição da síndrome (YOSHIMASA, 2005).

A Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) aponta que a SM corresponde a um conjunto de doenças cuja base é a resistência insulínica. Pela dificuldade de ação da insulina, decorrem as manifestações que podem fazer parte da síndrome (SBEM, 2015). Não existe um único critério aceito universalmente para definir a Síndrome. Dentre as definições mais utilizadas, destacam-se as do *National Cholesterol Education Program* (NCEP) (NATIONAL, 2007), revisada posteriormente pela *American Heart Association e National heart, lung and blood institute* (AHA/NHLBI) (GRUDY, *et al*, 2005) e os da *International Diabetes Federation* (IDF) (ALBERTI, *et al*, 2005).

De modo geral, entre estas instituições utilizam os mesmos componentes para definir SM: hiperglicemia, hipertensão arterial, dislipidemia [diminuição do Colesterol HDL (C-HDL) e elevação do triglicérido (TG)] e a obesidade visceral (circunferência abdominal aumentada) (REAVEN, 1988; GRUNDY, 2004).

Embora estejam bem definidos quais fatores devem ser considerados para a definição de SM, há diferenças entre as definições de SM quanto aos pontos de corte adotados, conforme exposto na Figura A.

Em 2009 foi realizado um encontro entre a International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; e International Association for the Study of Obesity com o intuito de unificação da definição de SM: o Joint Scientific Statement (JIS). Os critérios definidores estão expostos na figura A. Neste novo consenso os limites para os valores circunferência abdominal foram modificados em consideração às

diferentes etnias populacionais. A vantagem deste consenso é considerar diferentes pontos de corte para diferentes etnias. A redução do ponto de corte para circunferência abdominal tem a vantagem de favorecer diagnóstico mais precocemente (ALBERTI, *et al*, 2009; SHAW, JA, 2013).

A SM ocorre entre diversas etnias, incluindo caucasianos, mongóis e descendentes, ameríndios, africanos, asiáticos, aborígenes australianos, polinésios e micronésios (ZIMMET, 1992; STERN, 1997; OSEI, 2009). A força de associação com que cada componente de definição da SM apresenta com a elevação do risco para DCV (RDCV) tem sido distinta conforme a etnia, embora em todas pode ser verificado que a combinação de fatores alterados potencializa o RDCV (EUROPEAN ARTERIAL RISK POLICY GROUP, 1997).

Vários estudos têm demonstrado que a SM é um forte preditor de DCV, especialmente coronariana (LAKKA *et al*, 2002; SATTAR *et al*, 2003) independentemente de fatores conhecidamente aterogênicos, como níveis de colesterol-LDL (C-LDL). Na SM, o paciente apresenta estado pró-inflamatório com interferência na fibrinólise (HORI *et al*, 2002). Sakkinen *et al* (2000) em seus estudos identificaram variáveis pró-inflamatórias, coagulantes e hipofibrinolíticas associadas à SM. Em concordância com estes achados, Alessi *et al* (2008), identificaram que as alterações evidenciadas na SM estavam fortemente associadas não apenas com o desenvolvimento de DM 2, mas também com a aterotrombose. Recentemente, associação de SM com anormalidades na cascata de coagulação tem sido descrita (PERÉS *et al*, 2009).

A fisiopatologia da hipercoagulabilidade na SM envolve diversos mecanismos (HE *et al*, 2005), dentre os quais destaca-se o aumento dos níveis do inibidor da ativação do plasminogênio 1 (*PAI-1*), também conhecido como *SERPINE1* (serpine peptidase inibitor, clade E, member 1). O *PAI-1* pertence à superfamília dos inibidores de serina proteases (serpinas) e é o principal regulador da atividade da t-PA e u-PA (Brown, 2010). ANAND *et al* (2003) considerou que a elevação do *PAI-1* plasmático seja o cerne das alterações trombóticas da SM já que é a principal anormalidade implicada no estresse oxidativo e no estado inflamatório encontrado nesta síndrome.

**Tabela** : Critérios para definição de síndrome metabólica (SM) segundo AHA/NHLBI, IDF, e JIS.

DEFINIÇÃO	SM AHA/NHLBI <sup>a</sup>	SM IDF <sup>b</sup>	SM JIS <sup>c</sup>
Critério obrigatório	Nenhum	Circunferência abdominal de acordo com etnia. Adotado: Homens: $\geq 94$ cm; Mulheres: $\geq 80$ cm.	Nenhum
Critérios adicionais	Pelo menos três dos critérios abaixo:	Pelo menos dois dos critérios abaixo:	Pelo menos três dos critérios abaixo:
HDL	Homem: $< 40$ mg/dL Mulher: $< 50$ mg/dL	Homens: $< 40$ mg/dL Mulheres: $< 50$ mg/dL	Homens: $< 40$ mg/dL Mulheres: $< 50$ mg/dL
TG	$\geq 150$ mg/dL	$\geq 150$ mg/dL	$\geq 150$ mg/dL
CA	Homens: $\geq 102$ cm; Mulheres: $\geq 88$ cm	Homens: $\geq 94$ cm; Mulheres: $\geq 80$ cm <sup>#</sup>	Circunferência abdominal de acordo com etnia. Adotado: Homens: $\geq 94$ cm; Mulheres: $\geq 80$ cm.
GJ	$\geq 100$ mg/dL	$\geq 100$ mg/dL	$\geq 100$ mg/dL
HAS	PAS $\geq 130$ mmHg ou PAD $\geq 85$ mmHg	PAS $\geq 130$ mmHg ou PAD $\geq 85$ mmHg	PAS $\geq 130$ mmHg ou PAD $\geq 85$ mmHg

HDL: Lipoproteína de alta densidade; TG: triglicerídeos; CA: circunferência abdominal; GJ: glicemia de jejum; HAS: hipertensão arterial sistêmica; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; a: American Heart Association / National Heart, Lung and Blood Institute; b: International Diabetes Federation; c: Harmonizing the metabolic syndrome: a Joint Interim Statement;

**Figura A** – Tabela com critérios para definição de Síndrome Metabólica (SM) segundo AHA/ NHLBI, IDF e JIS (cedida por GELENSKE, T, 2010).

Níveis elevados de *PAI-1* podem predispor não apenas à aterosclerose e, conseqüentemente, a eventos cardiovasculares (MARVRI, ALESI, 2004), mas também à trombose venosa (PALOMO *et al*, 2006) e embolia pulmonar (WYSEURE, *et al*, 2015). Alguns estudos demonstraram uma maior freqüência de DCV em pessoas com SM e aumento dos níveis de *PAI-1* (JUHAN-VAGUE *et al*, 1993; HAMSTER *et al*, 1987; LOPES *et al*, 2003; BATTES, *et al*, 2014).

Não foram identificados na população brasileira, composta por diferentes etnias, estudos sobre a freqüência do polimorfismo –675 4G/5G na região promotora do gene da *SERPINE1* e sua associação com SM e DCV. Nas pessoas com HIV, poucos estudos avaliaram os níveis de *PAI-1* e suas associações com distúrbios metabólicos (VAN-VONDEREN, 2009; KRISTOFFERSEN, 2009; HERBERT, 2006; HE, 2005; SPORER, 2005; YOUNG, 2004; De LARRAÑAGA, 2004; YKE-

JÄRVINEM, 2003; WORM, 2009; HADIGAN, 2001). Em nenhum deles, os níveis de *PAI-1* se alteraram após introdução de ARV (KRISTOFFERSEN, 2009; YOUNG, 2004). Em dois estudos, os seus níveis plasmáticos diminuíram após o uso de sensibilizadores de insulina (YKI-JARVINEN *et al*, 2003; HADIGAN *et al*, 2001). Não existe estudos sobre polimorfismos que envolvam o gene da *SERPINE1* em pessoas vivendo com HIV/AIDS no banco de dados pesquisado.

Embora a síndrome metabólica tenha como base fisiopatológica a resistência insulínica (LUNA, 2015), o estado de hipercoagulabilidade e inflamação poderiam explicar a elevada freqüência de eventos cardiovasculares nesta população. Além disso, não há estudos que expliquem porque algumas pessoas com SM cursam com maior ocorrência destes eventos (KIN, 2004; PIMENTA *et al*, 2006; KAHN *et al*, 2005.). Uma hipótese a ser considerada é a predisposição genética atuando sinergicamente a situações que favoreçam o desequilíbrio da coagulabilidade, destacando a elevação do *PAI-1*. Dessa forma, alguns biomarcadores, como o *PAI-1*, poderiam ser empregados para apontar aqueles com maior risco para doença cardiovascular na prática clínica diária e em quem uma atenção clínica e terapêutica precisassem ser mais agressiva.

### 2.3 Polimorfismo 4G5G

Pesquisas no ramo do seqüenciamento do genoma humano têm como uma de suas vertentes a análise da expressão dos genes envolvidos no metabolismo humano. Tão importante quanto à expressão gênica é a não expressão, ou a expressão modificada, pois todas podem definir alterações metabólicas que esclareçam diversos fenômenos clínicos encontrados no homem.

As alterações genéticas (mutações) são caracterizadas como inserção, deleção, substituição e silenciamento de bases púricas ou pirimídicas que constituem o DNA ou o RNA. As alterações com freqüência maior que 1% são ditas polimorfismos genéticos e podem ocorrer em uma única base nucleotídica ou em

bloco de bases e, ainda, em conjunto com outras seqüências genéticas num mesmo cromossomo ou em cromossomos distintos (NATURE, 2015).

As razões das modificações genéticas podem ser várias, como replicação de DNA não reparada durante o momento da mitose na fase embrionária ou fase de crescimento orgânico, exposição à fatores promotores de mutação como radiações ionizantes, drogas teratogênicas, compostos nitrogenados e infecções virais (EVOLUTION, 2015; GENETIC SCIENCE LEARNIG CENTER, 2015).

A análise de polimorfismos no homem permite compreender as possíveis repercussões em seus portadores, possibilitando antever e prognosticar eventuais distúrbios clínicos associados à expressão ou não expressão gênica que caracteriza tais polimorfismos (DONG *et al*, 2005; HERNANDEZ & BLAZER, 2006).

Um polimorfismo que parece estar associado a distúrbios metabólicos e trombóticos no ser humano é o da região -675 do gene da *SERPINE1*, localizado no cromossomo 7, banda q22.1 (anteriormente denominado de 4G5G do PAI (ERIKSSON *et al*, 1995; AERTGEERTS, *et al*, 1995; PANAHLOO, *et al*, 1995; HUANG *et al*, 2014). Desde 1988, este gene tem sido alvo de vários estudos (MARGAGLIONE, 1997; ANNICHINO-BIZZACCHI *et al*, 1998; PISANI *et al*, 2007; ISORDIA *et al*, 2008; LIMA *et al*, 2008; FESTA *et al*, 2008; IKI-JARVINEN *et al* 2009; MA, Z., 2009; SU *et al*, 2009; CUNTO *et al*, 2009). Muito já se sabe sobre sua constituição, sobre o ponto freqüente de mutação (DAWSON *et al*, 1991), sobre seu papel fisiológico e sobre sua participação nas vias metabólicas correlatas à infecções (DAWSON *et al* 1993) e à aterosclerose (DAWSON *et al*, 1991).

O polimorfismo 4G/5G, uma variação comum na região promotora do gene da *SERPINE1*, é caracterizada por inserção ou deleção de uma guanina, a 675pb antes o sítio de início da transcrição (DAWSON *et al*, 1991; LIMA *et al*, 2011). Seus portadores podem ser homozigóticos para o alelo 4G (4G/4G), para o alelo 5G (5G/5G) ou heterozigóticos (4G/5G) e as variações genéticas no locus contribuem para as diferenças entre as pessoas nos níveis plasmáticos de *PAI-1* (DAWSON *et al*, 1991) e conseqüente surgimento de estado pró-trombótico (ANNICHINO-BIZZACCHI *et al*, 1998). Genótipos 4G/5G e 4G/4G são, respectivamente em ordem crescente, determinantes de maior síntese do *PAI-1* quando comparados com o genótipo 5G/5G. O que fica claro que a deleção de guanina em uma ou nas duas cadeias de DNA caracteriza os genótipos. Há evidências de que a simples deleção

da base seja fator determinante do aumento plasmático dessa molécula (ALESSI *et al* 2008; DING, PAN, 2005).

Isordia-Salas *et al* (2009) realizaram um estudo de caso-controle com pessoas atendidos na Unidade de Investigação Médica em Tromboses, Hemostasias e Aterogêneses, no Distrito Federal do México para conhecer a freqüência do polimorfismo e determinar o risco de infarto agudo do miocárdio ao que relacionou o alelo 4G à elevação do segmento ST e conseqüentemente a maior risco de infarto. Festa *et al* (2003) procedeu estudo multicêntrico na Espanha, com um total de 1564 pessoas de etnias distintas: negros, brancos hispânicos e não hispânicos e constatou que a maior freqüência era de heterozigóticos 4G/5G (44,18%) seguidas de homozigose para o alelo 5G (34,5%) e 4G (18,3%). Por sua vez, Margaglione (2009) estudando a população hispânica verificou que 50,26% das pessoas apresentavam heterozigose (4G/5G), 24,36% homozigose 4G/4G e 25,38% homozigose 5G/5G. Narah *et al* (2008) mostrou uma variação da freqüência dos genótipos em diferente grupos étnicos. O genótipo mais desfavorável (4G/4G) esteve freqüente em 13% de africaners, 54% em indianos e 58% em caucasianos. No Brasil, Lima *et al* (2011) avaliando associação de polimorfismo 4G/5G do gene *SERPINE1* e gravidade de doença coronariana, identificaram associação de homozigose 4G/4G com níveis mais elevados de *PAI-1* e estenose coronariana grave. Entre os indivíduos saudáveis usados nesse estudo, a freqüência de 5G/5G foi 31%, de 4G/5G foi de 36% e a de 4G/4G foi de 31%.

Alguns estudos mostram que fatores ambientais e individuais estão envolvidos como determinantes dos níveis de *PAI-1* plasmático, codificados pelo gene *SERPINE1*. Dentre eles níveis de triglicerídeos (YOSHAIMASA *et al*, 2005; GNACIŃSKA *et al*; 2010), resistência insulínica (MYNARCIK *et al*, 2000; KISHORE *et al*, 2010) e IL 1 (DAWSON *et al* 1993). Há evidencias de que outros fatores como o uso de drogas também estejam envolvidos nos níveis plasmáticos do *PAI-1* (YKI-JARVINEN *et al*, 2003). Dong *et al* (2005) verificou evidencias de que o acentuassomo *C/EBP $\sigma$*  pode ser estimulada pela IL-6 com associação com maior síntese de *PAI-1* plasmático.

## 2.4 Síndrome metabólica em pessoas vivendo com HIV/AIDS.

A síndrome metabólica tem sido amplamente descrita em pessoas com HIV/AIDS, embora a sua frequência tenha variado nos diversos estudos. Gazzaruso *et al* (2002), em uma coorte envolvendo 553 pessoas em uso de ARV, encontraram uma frequência de 45,4% de SM. Troian *et al* (2005), estudaram 151 pessoas com terapia antirretroviral há um ano ou mais anos e encontraram uma frequência de SM de 38,2% e dislipidemia em até 87,4%. Jericó *et al* (2005), em estudo transversal, descreveram frequência que variou de 17 a 27%, de acordo com a faixa etária estudada. Diehl *et al* (2008) relataram frequência de SM de 36% de acordo com os critérios de NCEP-ATPIII em pessoas do estado do Paraná. Durante a avaliação basal de coorte em andamento no estado de Pernambuco, Ramos *et al* (2009), em dissertação de mestrado, encontrou frequência de 27,7% de SM em pessoas com HIV (dados ainda não publicados).

Os mecanismos pelos quais as pessoas vivendo com HIV/AIDS desenvolvem a SM ainda não estão completamente compreendidos, e parecem envolver fatores associados ao indivíduo, à infecção e à TARV, além de fatores genéticos do hospedeiro (LEE *et al*, 2006; ADDY *et al*, 2006). Johnsen *et al* (2006) relata que esquemas antirretrovirais contendo IPs associou-se com o desenvolvimento de anormalidades metabólicas e aumento da frequência de SM. O processo envolvido nesta associação parece envolver a dislipidemia e resistência insulínica relacionados a certas drogas antirretrovirais (JERICÓ *et al*, 2005; CALZA *et al*, 2004; ESTRADA *et al*, 2004).

Além da TARV, outros fatores como a lipodistrofia, têm sido relatados como fatores de associação com a SM metabólica do HIV. Bonfanti *et al* (2006) e De Socio *et al* (2008) verificaram chance cerca de duas vezes maior para síndrome metabólica, segundo NCEP ATP III (2002), em pessoas com HIV e lipodistrofia. Fenotipicamente, as pessoas com SM assemelham-se aos portadores de lipodistrofia mista, mas não é certo se ambos compartilham a mesma via patogênica e conseqüências clínicas.

Na população geral, a presença de síndrome metabólica está associada ao aumento da mortalidade e de risco para eventos cardiovasculares em 1,5 e 2,5 vezes, respectivamente. (SBC, 2005) Estudos prospectivos para avaliação das repercussões da SM nas pessoas vivendo com HIV/AIDS ainda são necessários.

## 2.5 Síndrome metabólica e PAI 1

Embora não estejam entre os critérios definidores de SM, aumento de marcadores de inflamação e coagulação tem sido descrito em indivíduos com a síndrome (ALESSI and JUHAN-VAGUE, 2006). Um dos fatores envolvidos com a hipercoagulabilidade da SM é o inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI 1) (PENALVA, 2008).

O *PAI-1* é uma proteína da família de inibidores serina protease que impede a fibrinólise através da inativação do ativador de plasminogênio. É reconhecidamente secretado por células endoteliais, pela musculatura lisa, por hepatócitos e por adipócitos, sendo a grande maioria do *PAI-1* circulante advindo do tecido gorduroso. A complexa regulação da secreção do *PAI-1* não está completamente esclarecida, mas parece envolver o metabolismo da glicose e dos lipídeos, com aumento da secreção na vigência de hiperinsulinemia (ALESSI and JUHAN-VAGUE, 2006; BORONAT *et al*, 2009) e hipertrigliceridemia.

Os níveis plasmáticos de *PAI-1* elevados estão associados à formação de placas ateromatosas (SOBEL *et al*, 1999) e a fenômenos tromboembólicos, parecendo ter valor preditivo para eventos como o infarto agudo do miocárdio (IAM) e acidente vascular encefálico (AVE) (HAMSTEN *et al*, 1987; SMITH *et al*, 2005). Quando ajustado por marcadores da síndrome metabólica, como IMC e dislipidemia, o valor preditivo do *PAI-1* para doença cardiovascular desaparece, parecendo que a presença de síndrome metabólica é um pré-requisito para a elevação do *PAI-1* em pessoas com o aterotrombose (ALESSI, JUHAN-VAGUE, 2006).

A ligação entre a síndrome metabólica e o nível circulante de *PAI-1* foi descrita pela primeira vez em 1986 (VAGUE *et al*, 1986) Desde então, várias

evidências de suas associações estão disponíveis na literatura. LOPES *et al* (2003) mostraram aumento dos níveis de *PAI-1* em pessoas com obesidade visceral quando comparados com não obesos. VISANJI *et.al.*(2000) evidenciaram níveis elevados de *PAI-1* na vigência de hipertrigliceridemia. Recentemente, Boronat *et al* (2009), em um estudo de base populacional envolvendo 902 adultos sem diabetes, evidenciaram que o *PAI-1* foi um preditor independente de SM. Além disso, estudos de intervenção utilizando sensibilizadores de insulina (KRZYNSKA *et al*, 2000), e dieta hipocalórica para aquisição de perda ponderal (FOLSOM *et al*, 1993) evidenciaram redução dos níveis plasmáticos de PAI 1.

A via de interligação entre o aumento de níveis plasmáticos do *PAI-1* e a SM é complexa, mas parece envolver, em última instância, mecanismos relacionados à célula adiposa, seu processo de diferenciação, produção de adipocinas e a capacidade de responder a estímulos hormonais. Estudos têm sugerido que a deposição ectópica de gordura corporal está associada tanto com os níveis elevados de *PAI-1* circulante (SHIMOMURA *et al*, 1996) como com a síndrome metabólica (ALESSI, JUHAN-VAGUE, 2006). Esta deposição de gordura ectópica funcionaria como um fator tóxico para o tecido adjacente, com produção de substâncias ativas como ácidos graxos livres e citocinas inflamatórias (fator de necrose tumoral-TNF), levando a resistência insulínica (HUTLEY, PRINS, 2005). De fato, níveis elevados de *PAI-1* tem sido descrito em associação com obesidade visceral e resistência insulínica (SAKKINEN *et al*, 2000), assim como a correlação entre os níveis de TNF e os de *PAI-1* (PANDEY *et al*, 2003). Por outro lado, um estudo *in vitro* mostrou que a superexpressão do *PAI-1* parece prejudicar o processo de diferenciação dos adipócitos levando a obesidade e resistência insulínica (ALESSI, JUHAN-VAGUE, 2006).

Assim a elevação do *PAI-1* parece compartilhar vias patogênicas comuns as da síndrome metabólica, onde as alterações no adipócito levando a resistência insulínica desempenham um importante papel como gatilho inicial para as alterações clínicas e metabólicas subseqüentes. Estudos clínicos e laboratoriais ainda são necessários para a melhor compreensão desta interligação.

## 2.6 PAI-1 em pessoas vivendo com HIV/AIDS

Alguns autores têm avaliado a associação entre níveis plasmáticos de *PAI-1* e distúrbios metabólicos em pessoas vivendo com HIV/AIDS. Níveis mais elevados de *PAI-1* em pessoas com obesidade visceral, lipodistrofia e resistência insulínica (HE *et al*, 2005) já foram evidenciados. Em outros estudos, experimentais, não foram verificadas mudanças nos níveis plasmáticos de *PAI-1* após introdução de ARV (VAN VONDEREN *et al*, 2009; KRISTOFFERSEN *et al*, 2009), enquanto outros mostraram redução dos seus níveis após introdução de sensibilizadores de insulina (YKI-JÄRVINEN *et al*, 2003; HADIGAN *et al*, 2001). Estes estudos corroboram com a hipótese de que o *PAI-1* está mais envolvido com a redistribuição do tecido gorduroso do que com processos inflamatórios por si só, podendo ser um importante marcador de risco para distúrbios metabólicos em pessoas vivendo com HIV/AIDS. Até o momento, não existem estudos que avaliem o polimorfismo do promotor do *PAI-1* na população com HIV.

## 2.7 PAI-1 e Risco Cardiovascular estimado por Framingham

O envelhecimento das PLWHA têm se refletido em uma mudança significativa do perfil epidemiológico dessa população. Observa-se redução da mortalidade devido a causas relacionadas à AIDS e aumento da mortalidade devido a eventos não relacionados à AIDS (WADA: 2013). Dentre as doenças não relacionadas à AIDS, as DCV se destacam pela sua alta frequência (INGLE, 2014) e por se tratarem de condições clínicas que podem ser estimadas e, pelo menos em parte, evitadas (STONE, 2014).

Uma forma comumente utilizada para estimar eventos cardiovasculares é a utilização de equações que combinam vários fatores de riscos e fornecem um risco quantitativo para DCV em um determinado período de tempo (WILSON, 1998) O

escore de Framingham é uma dessas equações, amplamente utilizado na população geral, e mais recentemente em PLWHA (MOREIRA, 2010).

A compreensão da patogenia dos eventos cardiovasculares nessa população é complexa, uma vez que envolve fatores inflamatórios relacionados à infecção, que se mantém mesmo com o controle da infecção após introdução de ARV (PICONI, 2013). Há a participação dos fatores de risco tradicionais, relacionados ao envelhecimento e às complicações metabólicas desencadeadas pela TARV (GELENSKE, 2010; DE CARVALHO, 2010). Todas essas alterações levam a uma disfunção endotelial com inflamação, distúrbios da coagulação e fibrinólise, que são as primeiras alterações da doença aterosclerótica (LIBBY, 2011)

Dentre as citocinas endoteliais, *PAI-1* é o principal fator inibidor da fibrinólise e disfunções associadas a essa citocina têm sido associada à doença cardiovascular (LOPES, 2013). Os níveis plasmáticos do *PAI-1* podem sofrer influência de fatores como idade, sexo, obesidade, tabagismo, e polimorfismos genéticos e epigenéticos (HENRY, 1998). O polimorfismo mais estudado é o 4G5G, que é a inserção ou exclusão de nucleotídeo na região promotora do gene da *SERPINE1*. Há relatos que a presença do alelo 4G implique em níveis mais elevados de *PAI-1* (HUANG, 2012) e possivelmente estejam associados à DCV (LIMA, 2011). Essas associações são mais estudadas em pessoas sem HIV (HUANG, 2012; LIMA, 2011). Alguns autores encontraram níveis mais elevados de *PAI-1* na população que vive com HIV do que em pessoas sem HIV (GUZMAN-FULGENCIO, 2011). Há discordância quanto a associação de níveis elevados de *PAI-1* e fatores de risco para DCV (PIRS, 2014). Pouco se sabe sobre a participação do polimorfismo 4G5G e em PLWHA.

Levando-se em consideração a miscigenação da população brasileira e a diferença de frequência genotípica entre grupos étnicos, o estudo do polimorfismo e sua associação com os níveis plasmáticos do *PAI-1* poderá servir de auxílio na identificação de populações específicas mais expostas a risco cardiovasculares em nosso país. Assim, o presente estudo se propõe a determinar a frequência do polimorfismo do gene *SERPINE1*, bem como os níveis plasmáticos do *PAI-1* em pessoas vivendo com HIV/AIDS e verificar sua associação com a SM e com risco cardiovascular por escore de Framingham.

### 3 MODELO TÉORICO

O polimorfismo do gene *SERPINE1* na região -675 determina a expressão da síntese do *PAI-1 plasmático*. Os genótipos polimorfos podem ser três tipos: 4G4G, 4G5G e 5G5G, variando entre si em apenas um alelo de nucleotídeo (SNP). A substituição de uma guanina do gene caracteriza o 4G e está relacionada a maiores níveis de *PAI-1* circulante, nas etnias estudadas. Níveis mais elevados de *PAI-1* têm sido associados com síndrome metabólica e com risco cardiovascular.

A frequência dos genótipos é distinta em função da etnia, com a presença do alelo 4G menos frequente africana já estudada. De uma maneira geral, os estudos em populações latinas evidenciaram frequência semelhante da distribuição dos genótipos 4G/4G, 4G/5G e 5G/5G, e em caucasianos, a frequência do genótipo 5G/5G é menor. Na população do sudeste do Brasil, a distribuição encontrada foi semelhante à da população latina descrita em outros estudos.

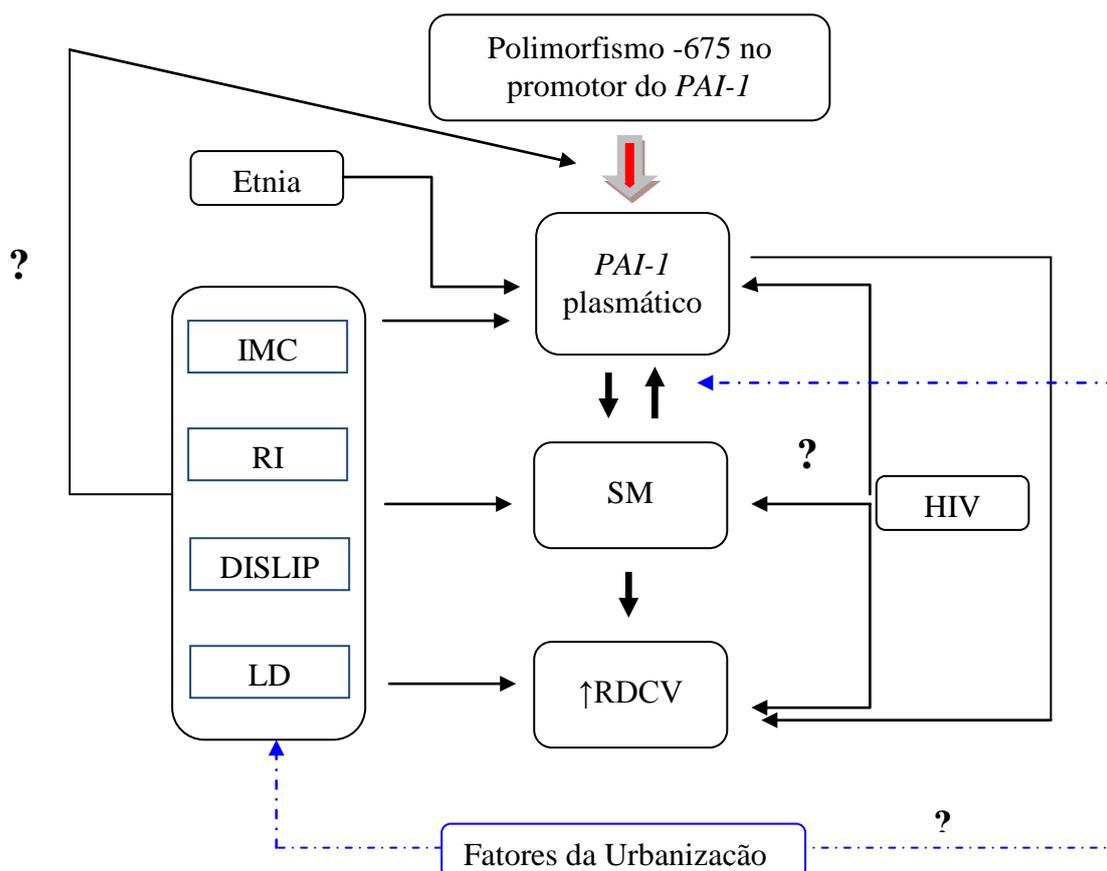
Em relação aos níveis de plasminogênio, a literatura aponta para níveis mais elevados entre caucasianos e asiáticos que possuem o alelo 4G. Nos estudos com africanos, os níveis de plasminogênio são menores, mas não há evidencia de variação na população de acordo com a presença ou ausência do alelo 4G.

Outros fatores parecem influenciar os níveis de plasminogênio circulantes. Há estudos mostrando que a urbanização eleva os níveis circulantes de plasminogênio.

Além disso, alguns estudos encontraram níveis mais elevados de plasminogênio em indivíduos com síndrome metabólica, obesidade central e lipodistrofia, o que levanta a suspeita de que o gene tenha sua tradução influenciada por diversos fatores. Não se sabe quais ao todo e quanto cada um dos fatores influencia a síntese proteica do *PAI-1*. Há evidências de que acúmulos de gordura visceral estão associados com maior concentração de *PAI-1* circulante e há registros de redução da síntese de *PAI-1* por drogas como rosiglitazone, metformina, lopinavir/ ritonavir.

A síntese elevada do *PAI-1* repercute na supressão do plasminogênio com diminuição dos níveis de plasmina, com redução da fibrinólise e favorecimento de eventos trombogênicos.

Há evidências de que distúrbios na cascata de coagulação, como aumento dos níveis de PAI-1, participam da patogenia da SM e contribuem para maior RDCV. Não é consenso se os níveis de PAI-1 aumentam por causa do evento cardiovascular e da inflamação associada à SM, ou se antecedem e favorecem o aparecimento da SM e dos eventos cardiovasculares. Há estudos mostrando níveis de PAI-1 mais elevados em indivíduos com infarto um ano antes do evento acontecer. Também não se sabe qual influência dos fatores determinantes da SM sobre a síntese do *PAI-1*, embora haja evidência de que a resistência insulínica, o IMC, a dislipidemia e o acúmulo de gordura em certas partes do corpo tenham influência negativa no ativador tecidual de plasminogenio (tPA) e na urokinase (uPA) repercutindo em maiores níveis de *PAI-1* circulante.



**Figura B** - Representação esquemática do Modelo Teórico

Por não ter sido estudado ainda, não há evidências da influência do HIV/AIDS na expressão do gene *SERPINE1* (região -675). Sabe-se que as drogas antiretrovirais (ATR), principalmente inibidores de proteases (IP) e nucleotidasas (IRNT) promovem disfunção metabólica. Embora ocorra associação da infecção do HIV e da TARV com síndrome metabólica (SM), ainda não se sabe se há associação entre o polimorfismo 4G/5G do gene *SERPINE1*, os níveis plasmáticos do *PAI-1* e desenvolvimento da SM na população com HIV, ou se os níveis de *PAI-1* plasmáticos e a frequência de polimorfismo 4G/5G ocorre de igual modo às etnias reportadas nos artigos encontrados.

#### 4 HIPÓTESE DO ESTUDO

Hipotetizamos, portanto que:

*Em pessoas vivendo com HIV/AIDS, no estado de Pernambuco, o polimorfismo 4G/5G da SERPINE1 está associado a super-expressão deste gene o que pode ser verificado por níveis elevados de PAI-1 plasmático que por sua vez pode apresentar-se associado com as alterações metabólicas separadamente ou com a síndrome metabólica em si, e ainda pode estar associado à elevação do risco de doença cardiovascular.*

#### 5 PERGUNTAS CONDUTORAS

- Qual a frequência do polimorfismo -675 4G/5G do promotor do *PAI-1* em pessoas vivendo com HIV/AIDS no Estado de Pernambuco?
- Existe associação entre o polimorfismo -675 4G/5G do promotor do *PAI-1* com os níveis plasmáticos de *PAI-1*, síndrome metabólica e com o perfil metabólico das pessoas vivendo com HIV/AIDS no Estado de Pernambuco?

- Existe associação entre os níveis plasmáticos de *PAI-1* com síndrome metabólica e com o perfil metabólico das pessoas vivendo com HIV/AIDS no Estado de Pernambuco?
- Existe associação do polimorfismo na região -675 do gene *SERPINE1* (*PAI-1*) e dos níveis de plasminogênio plasmáticos (*PAI-1*) com risco cardiovascular (RDCV) estimado pelo escore de Framingham e com fatores de risco tradicionais em PLWHA?

## 6 OBJETIVOS

### 6.1 Geral

O objetivo deste estudo foi determinar a frequência do polimorfismo -675 4G/5G do promotor do *PAI-1* e verificar sua associação com os níveis plasmáticos de PAI 1, síndrome metabólica, perfil metabólico e risco cardiovascular em pessoas vivendo com HIV/AIDS no Estado de Pernambuco.

### 6.2 Específicos

1. Determinar a frequência dos polimorfismos genéticos 4G/4G, 5G/5G, 4G/5G na região 675 promotora do *PAI-1* em pessoas vivendo com HIV/AIDS;

2. Verificar a associação dos polimorfismos no promotor do *PAI-1* e os níveis plasmáticos de *PAI-1* em pessoas vivendo com HIV/AIDS;
3. Verificar a associação dos polimorfismos no promotor do *PAI-1* com a síndrome metabólica e seus critérios de definição (circunferência abdominal, HAS, níveis de HDL, TG e glicemia de jejum) em pessoas vivendo com HIV/AIDS;
4. Verificar associação entre os níveis de *PAI-1* plasmático com a síndrome metabólica e de seus critérios de definição em pessoas vivendo com HIV/AIDS.
5. Verificar a associação entre os polimorfismos da região -675 do gene *SERPINE1* e dos níveis de *PAI-1* com o risco cardiovascular avaliado pelo escore de Framingham em pessoas vivendo com HIV/AIDS.

## 7 MATERIAL E MÉTODOS

### 7.1 Desenho do estudo e população

Este estudo constou de duas etapas para o primeiro artigo: a primeira etapa foi um corte transversal para verificar a frequência de polimorfismo e a associação com níveis de *PAI-1* plasmáticos. Na segunda etapa, para verificar a associação entre polimorfismo e níveis de *PAI-1* com SM, utilizou-se uma estratégia de caso controle.

Para o segundo artigo, foram utilizados os dados obtidos no artigo 1 e foi verificado se existe associação do polimorfismo e dos níveis de *PAI-1* plasmático com risco cardiovascular elevado, definido pelo escore de *Framingham*. Também foram testadas associação com outros fatores de risco para doença cardiovascular.

Ambos os estudos são parte da *Cohort AIDS-PE*, uma coorte iniciada em julho de 2007, composta por mais de 2074 pessoas vivendo com HIV/AIDS (PLWHA) em atendimento ambulatorial em dois serviços de referência para HIV do estado de Pernambuco, Brasil.

## **7.2 Local do estudo**

Esse trabalho foi desenvolvido com grupo de pessoas vivendo com HIV/AIDS, acompanhados clinicamente em dois serviços de referência do Estado de Pernambuco, Brasil: Hospital Correia Picano e Hospital Oswaldo Cruz.

## **7.3 População do estudo**

Nesse estudo, foram incluídas pessoas vivendo com HIV/AIDS, iguais ou maiores de 18 anos, atendidas ambulatorialmente entre 2007 e 2012. Foram excluídos as pessoas que apresentaram doença relacionada à AIDS nos três meses anteriores às entrevistas.

## **7.4 Categorização das variáveis**

### **7.4.1 Variáveis dependentes**

Síndrome metabólica

Para a definição de SM foram empregados os critérios utilizados pelo *Harmonizing the metabolic syndrome: a Joint Interim Statement (JIS)* (ALBERTI *et al*, 2009) que consideram caso de SM quando o indivíduo apresenta 3 ou mais dos seguintes critérios de definição: Circunferência abdominal (CircAbd)  $\geq 94$  cm para homens e  $\geq 80$  cm para mulheres; Pressão arterial (PAS)  $\geq 130$ mmHg ou PAD  $\geq 85$  mmHg ou uso de hipotensores orais; Glicemia(GJ) se  $\geq 100$  mg/dl ou uso de hipoglicemiantes; Trigliceridemia (TG) se  $\geq 150$  mg/dl ou uso de hipolipemiantes; Colesterol HDL (C-HDL) se  $< 40$  mg/dl em homens e  $< 50$  mg/dl em mulheres.

### Estimação de risco para doenças cardiovasculares (RDCV)

Para a estimação de risco para doenças cardiovasculares, foi empregado o escore de *Framingham* (Anexo C). Nesse modelo, calcula-se a chance, em percentual, de um indivíduo apresentar um evento cardiovascular no período de dez anos. Depois, as pessoas foram estratificadas em baixo risco ( $< 10\%$ ), moderado risco (10 a 20%) e alto risco ( $> 20\%$ ). Nesse estudo, agrupamos as pessoas em duas categorias: Baixo risco ( $< 10\%$ ) e risco elevado ( $\geq 10\%$ ), incluindo-se as pessoas com risco moderado e alto em uma única categoria.

### Outros fatores de risco cardiovasculares

Além do RDCV estimado pelo escore de Framingham, os seguintes fatores de risco para doença cardiovascular foram analisados separadamente: comorbidades clínicas [hipertensão (HAS), diabetes mellitus (DM), excesso de peso, dislipidemia], laboratoriais [TG, LDL, TG, HDL, razão TG/HDL, CT não HDL (CNHDL)].

Foi considerada presença de hipertensão a pressão arterial sistólica (PAS)  $> 130$ mmHg ou pressão arterial diastólica (PAD)  $> 85$ mmHg, ou uso de anti-hipertensivos no momento da entrada no estudo.

Foi considerada presença de diabetes (DM) glicemia de jejum  $> 125$ mg/dL, ou uso de hipoglicemiante oral no momento da entrada no estudo.

Excesso de peso foi definido de acordo com o índice de massa corporal (IMC) e categorizado como: pessoas magras ( $< 18,5\text{kg/m}^2$ ), peso normal ( $18,5$  a  $24,9\text{kg/m}^2$ ), e excesso de peso ( $\geq 25\text{kg/m}^2$ ), com agrupamento dos pessoas com sobrepeso ( $25$  a  $29,9\text{kg/m}^2$ ) e obesidade ( $\geq 30\text{kg/m}^2$ ) em uma única categoria. Hipercolesterolemia foi considerada quando  $\text{CT} \geq 200\text{mg/dL}$  ou uso de hipolipemiantes, LDL elevado se  $\geq 130\text{mg/dL}$ .  $\text{CT não HDL}$  foi calculado, subtraindo-se o valor do HDL do valor do CT. Foi considerado elevado se valores acima de  $160\text{mg/dL}$ . A razão  $\text{TG/HDL}$  foi utilizada como marcador de risco cardiovascular relacionado a um perfil lipídico desfavorável. Foi considerada alterada se valores  $\geq 3,8$ . Dislipidemia foi considerada presente se pelo menos um dos seguintes parâmetros estivessem alterados: CT, LDL, HDL, TG ou uso de hipolipemiantes.

#### **7.4.2 Variáveis de exposição:**

##### Polimorfismo na região -675 do gene *SERPINE1*:

Substituição ou ausência de uma guanina no loci -675 do gene *SERPINE1*. A heterozigose para o polimorfismo é definida pela substituição de uma base em um único alelo, caracterizando o genótipo 4G5G; a homozigose para o polimorfismo é definida pela substituição da base nos dois alelos caracterizando o genótipo 4G4G. Em nosso estudo, os genótipo 4G4G e 4G5G foram agrupados em uma única categoria.

##### *PAI-1* ativado plasmático

Devido à falta de padronização de valores de referência amplamente aceitos, o plasminogênio foi analisado como variável contínua.

### 7.4.3 Variáveis potencialmente associados à síndrome metabólica

As seguintes variáveis foram consideradas para possíveis ajustes do modelo multivariado: biológicas (sexo e idade), hábitos de vida (tabagismo), relacionadas ao HIV (valor de CD4, tempo de diagnóstico do HIV) e relacionadas à TARV (uso de ARV, tempo de uso de ARV).

Tabagismo foi categorizado como “uso atual”, “uso passado” e “não uso” de tabaco. “Uso passado” e “não uso” foram agrupados em uma única categoria. IMC foi categorizado de acordo com a OMS, para definir as pessoas como magras (< 18,5kg/m<sup>2</sup>), com peso normal (18,5 a 24,9kg/m<sup>2</sup>), e com excesso de peso (> 25kg/m<sup>2</sup>), com agrupamento das pessoas com sobrepeso e obesidade em uma única categoria. Considerou-se que havia hipercolesterolemia quando CT  $\geq$  200mg/dL ou se havia relato de uso de hipolipemiantes, LDL elevado se  $\geq$  130mg/dL. Considerou-se dislipidemia quando presente se pelo menos um dos seguintes parâmetros estivessem alterados: CT, LDL, HDL, TG ou uso de hipolipemiantes. A contagem de CD4 foi julgada baixa quando < 350 células/mm<sup>3</sup>. Tempo de diagnóstico do HIV foi referido pelo participante e confirmado no prontuário médico, categorizado com <3 anos e  $\geq$ 3 anos. As informações sobre a TARV foram retiradas do prontuário médico. Foi considerado “uso de ARV” se na data da entrevista o indivíduo estivesse em uso de antirretrovirais. Tempo de TARV foi avaliado como variável contínua, e categorizada em < 3 anos e  $\geq$  3 anos de acordo com a data do início da TARV obtida no prontuário médico.

### 7.4.4 Variáveis consideradas para ajuste do modelo final

Por serem consideradas potencialmente associados à SM as variáveis biológicas (sexo e idade), hábitos de vida (tabagismo), comorbidades clínicas [hipertensão (HAS), índice de massa corporal (IMC) e dislipidemia], laboratoriais (CT, LDL), relacionadas ao HIV (valor de CD4, tempo de diagnóstico do HIV) e

relacionadas à TARV (uso de ARV, tempo de uso de ARV), foram empregadas para ajuste de modelo final.

## **7.5 Operacionalização da pesquisa**

### **7.5.1 Coleta e processamento de dados**

Após assinatura de consentimento livre e esclarecido, os participantes responderam a um questionário padronizado e tiveram pressão arterial e medidas antropométricas aferidas por uma equipe treinada. Informações sobre TARV, doenças relacionadas ao HIV e valores de CD4 foram obtidas nos prontuários médicos e transcritas em formulários específicos.

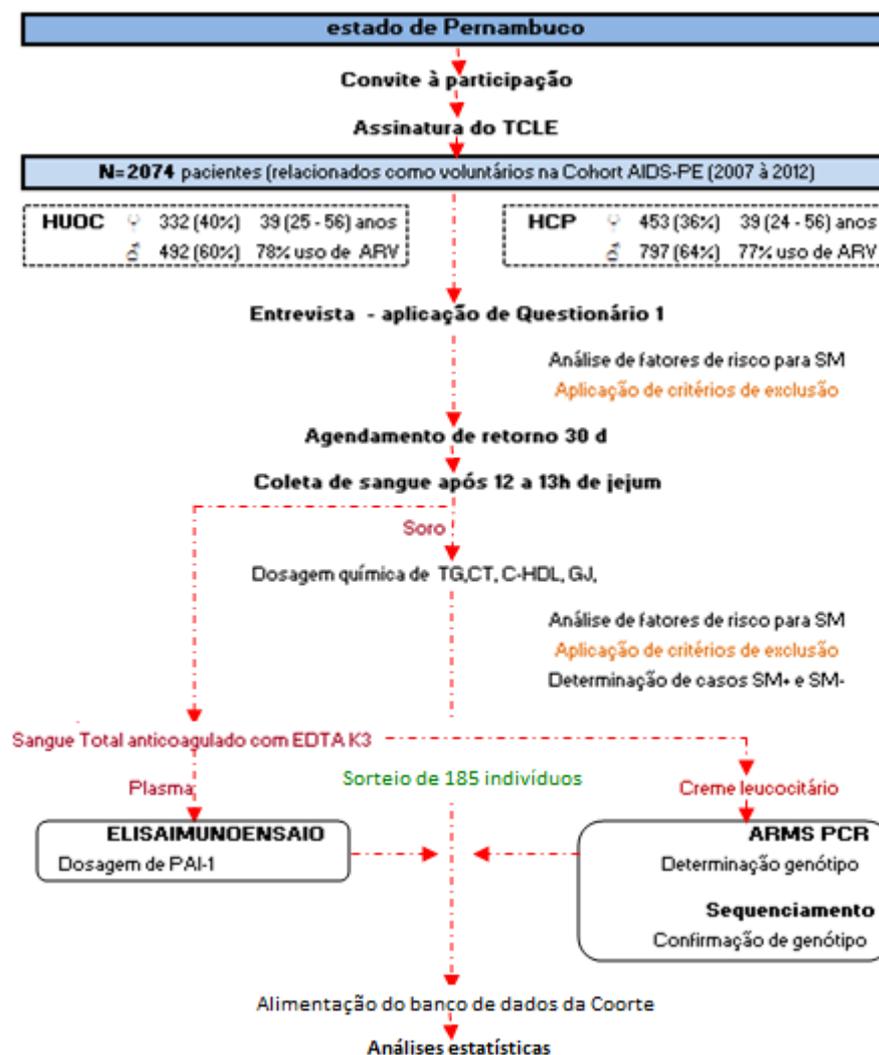


Figura C - Fluxograma da pesquisa

### 7.5.2 Dosagens séricas, plasmáticas e pesquisa de Polimorfismos

Amostras de soro, plasma e sangue total foram coletadas, nos dias 0 e 30 após admissão do paciente ao estudo. Soro e sangue total foram armazenados a -20°C e plasma a -80°C até o momento da análise. As coletas foram feitas sempre entre 8 e 11h da manhã. O plasma serviu à determinação de *PAI-1*, o soro foi empregado para dosagens de colesterol total (CHOL), colesterol lipoproteína de alta

densidade (HDL), Glicemia (GJ), triglicerídeos (TG). O sangue total foi utilizado para a quantificação de CD4 e obtenção de DNA para determinação do polimorfismo.

A quantificação de CD4 foi executada em equipamento *FACS Calibur three color flow cytometer* (Becton Dickinson); as dosagens bioquímicas, com amostras coletadas após jejum de 12h, foram analisadas por método enzimático em equipamento Cobas Mira (Roche), todos submetidos à gestão da qualidade, com variação aceitável de 5% da média dos controles. O valor do LDL foi calculado de acordo com a equação de Friedewald<sup>35</sup>.

Para dosagem de plasminogênio plasmático foi usado o kit de ELISA KHC3071 (Human Invitrogen Corporation) e para determinação dos polimorfismos, o DNA foi extraído com kit MINI SPIN PLUS (BIOPUR), com emprego de Proteinase K. Após extração de DNA as amostras foram submetidas à dosagem de DNA por equipamento Nanodrop 2000 (Thermo Cientific), com aceitação de amostras no mínimo 3 ng/μL. As amostras foram armazenadas em microplaca livre de DNAses e RNAses e congeladas a -20°C até execução da reação em cadeia da polimerase (PCR), no Centro de Genomas da UNIFESP-SP/ Brasil, com protocolo ARMS-PCR (amplification-refractory mutation system), descrito por Bonyadi e cols<sup>36</sup> e seqüenciamento gênico de 10% das amostras amplificadas para confirmação dos achados na PCR. A detecção dos polimorfismos na região -675 4G5G promotora do *PAI-1* foi feita usando como controle o primer 5'-AAGCTTTTACCATGGTAACCCCTGGT-3' e o 5'-TGCAGCCAGCCACGTGATTGTCTAG-3' gerando um amplicon de 256-pb como controle interno e alelo específicas 5G e 4G, respectivamente, 5'-AGAGTCTGGACACGTGGGGG-3' e 5'-AGAGTCTGGACACGTGGGGG-3' (138-pb, cada). Para seqüenciamento, foi empregado o protocolo próprio do Centro de Genomas<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> Protocolos disponíveis com o autor.

## 7.6 Considerações éticas

Este estudo está ligado a um grupo de pesquisa em HIV/aids do estado de Pernambuco. Está atrelado diretamente a uma coorte na qual tem sido acompanhado os participantes por 18 meses objetivando avaliar os distúrbios metabólicos associados à infecção pelo HIV e sua terapia, denominado **“Investigação prospectiva sobre lipodistrofia e alterações metabólicas (síndrome metabólica e perda de massa óssea) como efeito adverso da terapia anti-retroviral em adultos, adolescentes e crianças com HIV/aids no estado de Pernambuco com avaliação não invasiva de dano vascular e estudo do polimorfismo genético associado à resistência à insulina”**, coordenada pelo Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho.

O estudo segue os princípios da bioética e todos os pesquisadores se comprometem a cumprir as normas vigentes do Conselho Nacional de Saúde, em especial, das resoluções 196/96, 251/97 e 292/99. O sigilo absoluto das respostas tem sido assegurado a todos os participantes. Também tem sido garantido o atendimento e seguimento de todas as pessoas independente da sua aceitação em participar do estudo.

Os participantes poderão ser beneficiados diretamente no caso de detecção de alguma alteração ou doença a partir dos exames relacionados com a pesquisa, pois nesses casos eles serão imediatamente comunicados pelo seu médico que terá acesso aos resultados logo que disponíveis e poderá assim intervir o mais precocemente possível.

O projeto foi devidamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Pernambuco (declaração/protocolo de recebimento em Anexo A): Registro de Protocolo CEP/HUOC Nº 127/2006 em 26/09/2006. Após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – Apêndice A), por voluntário e testemunhas, respondem a um questionário padronizado (Apêndice B) aplicado por equipe treinada. Posteriormente, nos retornos de acompanhamento, o Formulário de Pesquisa (Apêndice C) é alimentado com dados das visitas e novos resultados de exames, esquemas terapêuticos

(introdução ou mudanças), imagiologia, histórico de doenças oportunistas e SIDA e outros dados específicos requeridos para cada Coorte aninhada.

O TCLE descreve detalhadamente todas as implicações, possíveis riscos e benefícios que poderão advir da adesão ao estudo. Cartas de anuência dos diretores das duas instituições que participarão da pesquisa também seguem em Anexos B e C.

## 7.7 Análise estatística

### 7.7.1 Do estudo para determinar as frequências de polimorfismo 4G5G e verificar sua associação com *PAI-1* plasmático e SM

Para a descrição da população calculamos distribuição de frequências e médias com seus respectivos desvios padrões. A associação do polimorfismo com a SM foi testada por teste  $\chi^2$  de *Pearson*. A medida de associação foi estimada pela *Odds ratio* com seus respectivos intervalos de confiança.

Para verificar a associação entre SM e polimorfismo, além de considerar os grupamentos ausência de 4G e presença de 4G foi feito por regressão logística multivariada ajustada, tendo como critério de entrada no modelo uma associação de até 20% ( $p < 0,2$ ). Antes, porém, foi procedido univariada com cada cada variável definidora da SM e com as potencialmente implicadas na SM. A conduta, teve dois objetivos: a) verificar a associação do polimorfismo com cada componente da SM, e b) verificar a associação para ver se necessário ajustar na análise.

Os dados foram digitados em dupla entrada e armazenados em banco exclusivo, utilizando o programa SQL Server 2000 (Microsoft) e Genexus (Version 7.5, Artech Consultores). A análise estatística foi feita usando o programa Stata 12.0. Para todas as comparações, um valor de  $p < 0,05$  foi considerado significativo.

Para comparação da variância das medianas de níveis de *PAI-1* plasmáticos condicionada aos genótipos do polimorfismo aplicamos o teste de *Kruskal-Wallis*, visto que a distribuição dos valores na amostra e intra-grupamentos genotípicos não foi normal.

### **7.7.2 Do estudo para verificar associação do polimorfismo 4g5g e do inibidor do ativador do plasminogênio 1 plasmático ativado com fatores de risco cardiovascular em pessoas vivendo com HIV/AIDS**

Para a descrição da população calculamos distribuição de frequências, médias com seus respectivos desvios padrões. *Teste t student* foi realizado para comparação de médias. A associação do polimorfismo do gene *SERPINE1* ativado com RDCV e demais fatores de risco cardiovasculares foi testada por teste  $\chi^2$  de *Pearson*. A medida de associação de variáveis paramétricas foi estimada pelo *Odds ratio* com seus respectivos intervalos de confiança.

O ajuste foi feito por regressão logística multivariada, tendo como critério de entrada no modelo uma associação de até 20% ( $p \leq 0,2$ ).

Os dados foram digitados em dupla entrada e armazenados em banco exclusivo, utilizando o programa SQL Server 2000 (Microsoft) e Genexus (Version 7.5, Artech Consultores). A análise estatística foi feita usando o programa Stata 12.0. Para todas as comparações, um valor de  $p < 0,05$  foi considerado significativo.

## 8 RESULTADOS

Foram produzidos dois artigos a partir das análises realizadas e em cumprimento dos objetivos elencados no projeto desta tese. Com o conjunto de dados obtidos nesta operacionalização mais 2 artigos que aqui não expomos por não corresponder aos objetivos desta tese.

### 8.1 ARTIGO 1 –

#### **Polimorfismo na região -675 do gene *SERPINE1* (*PAI-1*) e sua associação com níveis de *PAI-1* plasmático e com síndrome metabólica em pessoas vivendo com HIV/AIDS em Pernambuco-Brasil**

Após o advento da terapia antirretroviral potente (TARV), a maior sobrevida das pessoas com HIV aumentou o tempo de exposição às drogas antirretrovirais. Diversas alterações metabólicas têm sido observadas nos indivíduos incluindo a síndrome metabólica (SM) e estas têm sido relacionadas à infecção crônica pelo HIV e, possivelmente, ao seu tratamento.<sup>1,2,3</sup>

Gazzaruso *et al*<sup>6</sup>, relataram frequência de 45,4% de SM em pessoas vivendo com HIV/AIDS em uso de ARV. Jericó *et al*<sup>7</sup> encontraram uma frequência entre 17 a 27%, de acordo com a faixa etária. Troian *et al*<sup>8</sup> encontraram uma frequência de SM de 38,2% em usuários de ARV. Estudos sugerem que a TARV, fatores relacionados à infecção pelo HIV e fatores individuais podem estar associados com o desenvolvimento da SM.<sup>2,9</sup>

A síndrome metabólica (SM) é caracterizada pela presença concomitante de fatores reconhecidamente aterogênicos em um mesmo indivíduo.<sup>10</sup> A presença de SM aumenta em

cinco vezes o risco de ocorrência do diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e em duas vezes doença cardiovascular (DCV) trombótica, embora os fatores de hipercoagulabilidade não estejam incluídos nos critérios de definição da síndrome.<sup>11</sup>

Vários estudos têm demonstrado que a SM é um forte preditor de DCV, especialmente coronariana, independentemente dos níveis de colesterol-LDL (C-LDL). Na SM, o paciente apresenta estado pró-inflamatório com interferência na fibrinólise.<sup>11</sup>

É possível que a fisiopatologia da hipercoagulabilidade na SM envolva diversos mecanismos,<sup>12</sup> dentre os quais destaca-se o aumento dos níveis do inibidor da ativação do plasminogênio (PAI 1) que tem sido considerado, por alguns, o cerne das alterações trombóticas da SM<sup>13</sup> por ser a principal anormalidade implicada no estresse oxidativo e no estado inflamatório encontrado nesta síndrome. Alguns estudos demonstraram maior frequência de DCV em pessoas com SM e aumento dos níveis de *PAI-1*.<sup>14,15,16</sup>

Alguns genes estão envolvidos na regulação dos níveis de *PAI-1*, no entanto, apenas os polimorfismos na região 675, promotora do *PAI-1* parecem levar a uma super-expressão deste gene<sup>17,18</sup> e, conseqüentemente, estado pró-trombótico. As frequências destes polimorfismos parecem variar com a etnia e localização geográfica da população<sup>20</sup>, sendo importante o conhecimento da sua ocorrência em diferentes populações.

A resistência insulínica, o estado de hipercoagulabilidade e o estado contínuo de inflamação que caracterizam a síndrome metabólica poderiam explicar a elevada frequência de eventos cardiovasculares na população portadora de HIV<sup>13</sup>. Entretanto, não se sabe por que algumas pessoas com SM cursam com maior frequência destes eventos. Uma hipótese a ser considerada é a predisposição genética atuando sinergicamente a situações que favoreçam o desequilíbrio da homeostase de coagulação.

Há estudos que avaliaram os níveis de *PAI-1* e suas associações com distúrbios metabólicos em pessoas vivendo com HIV/AIDS.<sup>12,21,22,23,24</sup> Contudo, até o momento não identificamos estudos sobre a frequência do polimorfismo 4G/5G na região promotora do *PAI-1* e sua associação com SM na população brasileira.

O presente estudo se propõe a determinar a frequência do polimorfismo no promotor do *PAI-1* e sua expressão em pessoas vivendo com HIV/AIDS e verificar sua associação com a SM e risco de DCV.

## MÉTODOS

### População e Desenho do Estudo

Este estudo constou de duas etapas. A primeira etapa foi um corte transversal para verificar a frequência de polimorfismo e a associação com níveis de *PAI-1* plasmáticos. Na segunda etapa, para verificar a associação entre polimorfismo e níveis plasmáticos de *PAI-1*

com SM, utilizou-se uma estratégia de caso controle. Este estudo é parte da *Cohort AIDS-PE*, iniciada em julho de 2007, composta por pessoas vivendo com HIV/AIDS (PLWHA), maiores que 18 anos, atendidas entre 2007 e 2012 em dois serviços de referência para tratamento de pessoas vivendo com HIV/AIDS: Hospital Correia Picanço e Hospital Oswaldo Cruz, em Pernambuco - Brasil. Foram excluídas as pessoas que apresentaram doença relacionada à AIDS nos três meses anteriores às entrevistas.

### **Tipo de amostragem e definição do tamanho da amostra**

Devido à escassez de estudos envolvendo pessoas vivendo com HIV/AIDS que determinassem a frequência do polimorfismo na região -675 do gene *SERPINE1* e sua associação com níveis plasmáticos de *PAI-1* e com SM para determinar o tamanho da amostra utilizamos como referência estudos em população soronegativa para o HIV. Para a amostra do estudo de prevalência tomamos como base o trabalho de Martinez-Calatrava<sup>18</sup>, no qual a frequência do polimorfismo 4G/4G foi de 37%. Tendo em vista um nível de confiança de 95% e um erro esperado de 7%, a amostra foi calculada em 173 pessoas. Já estudar a associação entre o polimorfismo e níveis plasmáticos do *PAI-1* e síndrome metabólica, bem como entre níveis de *PAI-1* plasmático e SM a amostra calculada a partir do estudo de prevalência foi de 65 casos (SM+) e 117 controles (SM-). Foram sorteadas 182 pessoas entre os participantes da *Cohort AIDS-PE*.

### **Coleta e processamento de dados**

Após assinatura de consentimento livre e esclarecido, os participantes responderam a um questionário padronizado e tiveram pressão arterial e medidas antropométricas aferidas por uma equipe treinada. Informações sobre TARV, doenças relacionadas ao HIV e valores de CD4 foram obtidas nos prontuários médicos e transcritas em formulários específicos, ficha de coleta de dados de acompanhamento.

### **Coleta de amostras biológicas**

Amostras de soro, plasma e sangue total foram coletadas, nos dias 0 e 30 após admissão do paciente ao estudo. Soro e sangue total foram armazenados a -20°C e plasma a -80°C até o momento da análise. As coletas foram feitas sempre entre 8 e 11h da manhã.

### **Definição de variáveis**

A SM foi assumida como **variável dependente**. Esta foi definida conforme os critérios utilizados pelo *Harmonizing the metabolic syndrome: a Joint Interim Statement (JIS)*<sup>19</sup> que consideram caso quando o indivíduo apresenta 3 ou mais dos seguintes critérios de definição: Circunferência abdominal (CircAbd)  $\geq 94$  cm para homens e  $\geq 80$  cm para

mulheres; Pressão arterial sistólica  $\geq 130$  mmHg e diastólica  $\geq 85$  mmHg ou uso de hipotensores orais; Glicemia  $\geq 100$  mg/dl ou uso de hipoglicemiantes; Trigliceridemia  $\geq 150$  mg/dl ou uso de hipolipemiantes; Colesterol HDL (C-HDL)  $< 40$  mg/dl em homens e  $< 50$  mg/dl em mulheres.

As seguintes variáveis foram considerados potenciais fatores de confusão biológicos (sexo e idade), hábitos de vida (tabagismo), comorbidades [hipertensão (HAS), obesidade e dislipidemia], laboratoriais (CT, LDL), relacionadas ao HIV (valor de CD4, tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV) e relacionadas à TARV (uso de ARV, tempo de uso de ARV).

Tabagismo foi categorizado como “uso atual” ou “uso passado” e “não uso” de tabaco. IMC foi categorizado de acordo com a OMS: abaixo do peso ( $< 18,5$  kg/m<sup>2</sup>), com peso normal (18,5 a 24,9 kg/m<sup>2</sup>), e sobrepeso ( $> 25$  kg/m<sup>2</sup>). Considerou-se que havia hipercolesterolemia quando CT  $\geq 200$  mg/dL ou se havia relato de uso de hipolipemiantes, LDL elevado se  $\geq 130$  mg/dL. Considerou-se dislipidemia a ocorrência de alterações em um dos seguintes parâmetros: CT, LDL, HDL, TG ou uso de hipolipemiantes. A contagem de CD4 foi baixa quando  $< 350$  células/mm<sup>3</sup>. Tempo de diagnóstico do HIV foi referido pelo participante e confirmado no prontuário médico, categorizado com  $< 3$  anos e  $\geq 3$  anos. As informações sobre a TARV foram retiradas do prontuário médico. Foi considerado “uso de ARV” se na data da entrevista o indivíduo estivesse em uso de antirretrovirais. Tempo de TARV foi avaliado como variável contínua, e categorizada em  $< 3$  anos e  $\geq 3$  anos de acordo com a data do início da TARV obtida no prontuário médico.

A quantificação de CD4 foi executada em equipamento FACS Calibur three color flow cytometer (Becton Dickinson); as dosagens bioquímicas, com amostras coletadas após jejum de 12h, foram analisadas por método enzimático em equipamento Cobas Mira (Roche), todos submetidos à gestão da qualidade, com variação aceitável de 5% da média dos controles. O valor do LDL foi calculado de acordo com a equação de Friedewald<sup>25</sup>.

O Polimorfismo 4G5G (SNPs rs 1799889) e os níveis plasmáticos de *PAI-1* foram considerados como exposição principal.

Para dosagem de plasminogênio plasmático foi usado o kit de ELISA KHC3071 (Human Invitrogen Corporation). Devido à falta de padronização de valores de referência amplamente aceitos, o plasminogênio foi analisado como variável contínua.

Para determinação dos genótipos foi utilizado o ARMS-PCR (amplification-refractory mutation system - reação em cadeia da polimerase) com 2 primers de restrição como controles e 2 primers de restrição para SNPs rs1799889. As sequências para controles foram 5'-AAGCTTTTACCATGGTAACCCCTGGT-3' e o 5'-TGCAGCCAGCCACGTGATTGTCTAG-3' gerando um amplicon de 256-pb como controle

interno e as seqüências alelo específicas 5G e 4G, respectivamente, 5'-AGAGTCTGGACACGTGGGGG-3' e 5'-AGAGTCTGGACACGTGGGGG-3' (138-pb, cada). Para a extração de DNA foi usado o kit MINI SPIN PLUS (BIOPUR), com emprego de Proteinase K. Após extração de DNA as amostras foram submetidas à dosagem de DNA por equipamento Nanodrop 2000 (Thermo Cientific), com aceitação de amostras no mínimo 3 ng/ $\mu$ L. As amostras foram armazenadas em microplaca livre de DNAses e RNAses e congeladas a -20°C até execução da PCR, conforme descrito por Bonyadi e cols<sup>26</sup>. Para confirmação dos achados na PCR, 10% das amostras amplificadas foram seqüenciadas.

### **Análises estatísticas**

Para a descrição da população calculamos distribuição de frequências e médias com seus respectivos desvios padrões. A associação do polimorfismo rs1799889 com a SM foi testada por teste  $\chi^2$  de *Pearson*. Na comparação das medianas de níveis de *PAI-1* plasmáticos condicionada aos genótipos do polimorfismo aplicamos o teste de *Kruskal-Wallis*, já que a distribuição não era normal. Para todas as comparações, um valor de  $p < 0,05$  foi considerado significativo. Os dados foram digitados em dupla entrada e armazenados em banco exclusivo, utilizando o programa SQL Server 2000 (Microsoft) e Genexus (Version 7.5, Artech Consultores). A análise estatística foi feita usando o programa Stata 12.0.

## **RESULTADOS**

De 2074 participantes da *Cohort AIDS-PE* elegíveis para esse estudo, foram sorteados 185 de acordo com o cálculo amostral. Destes, houve 3 perdas por falta de informações necessárias para caracterização de SM. Na amostra sorteada a média de idade foi de  $40,5 \pm 9,5$  anos e 73,5% das pessoas eram do sexo feminino. A média de tempo de diagnóstico do HIV foi de  $4,6 \pm 4,1$  anos, 74,2% estavam em uso de ARV e 68,4% apresentavam  $CD4 > 350$  células/ $mm^3$ .

A SM foi encontrada em 37,9% das pessoas estudadas, sendo mais freqüente no sexo feminino. A Tabela 1 mostra a freqüência e proporção de variáveis consideradas potencialmente associadas à SM.

**TABELA 1** - Características clínicas e laboratoriais da população estudada de acordo com a presença de SM.

Variáveis	Todos	SM+	SM-	$\rho$
Tamanho da amostra (N)	182	69 (37,9%)	113 (62,1)	-
Idade (anos)*	40,5 ± 9,5	44,5 ± 8,9	38,1 ± 9,1	<0,001
Sexo feminino (%)**	133 (73,5%)	58 (84,1%)	75 (66,4%)	<b>0,009</b>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )*	24,7 ± 5,2	27,3 ± 5,1	23,1 ± 4,6	<0,001
Fumantes (%)**	30 (16,5%)	9 (13%)	21 (18,6%)	0,328
Colesterol Total (mg/dL)*	185,8 ± 49,3	187,1 ± 54,1	184,9 ± 53,1	0,794
Colesterol LDL (mg/dL)*	103,2 ± 56,6	107,4 ± 67,8	101,0 ± 49,4	0,47
CD4 ≤ 200/mm <sup>3</sup> (%)**	24 (13,4%)	7 (10,3%)	17 (15,3%)	0,339
CD4 ≤ 350/mm <sup>3</sup> (%)**	71 (31,6%)	22 (32,3%)	49 (44,1%)	0,118
Tempo de HIV (anos)*	4,6 ± 4,1	5,33 ± 3,9	4,24 ± 4,2	0,086
Uso de TARV (%)**	135 (74,2%)	54 (78,3%)	81 (71,7%)	0,325
Tempo de TARV (anos)*	4,2 ± 3,3	4,67 ± 3,4	3,94 ± 3,1	0,199
Dislipidemia (%)**	150 (82,4%)	67 (97,1%)	83 (73,4%)	<0,001
<i>PAI-1</i> ativado ***	13,6 (10,8-17,5)	13,5 (10,2-17,2)	13,8 (11,0-18,7)	0,397

\* Média e Desvio Padrão

\*\* N e percentual correspondente

\*\*\* Medianas e intervalo interquartil

Dos 182 participantes do estudo, 16 (8,65%) tinham genótipo (5G5G), 161 (87,03%) tinham alteração de um único alelo (4G5G) e 8 pessoas (4,32%) apresentavam mutação em ambos os alelos (4G4G).

Não encontramos diferenças entre genótipos quanto à presença de SM ( $\rho=0,662$ ), nem associação entre grupamentos genótipicos e SM (Tabela 2).

Não houve associação entre o polimorfismo 4G5G na região -675 do promotor do *PAI-1* e os componentes definidores de SM (Tabela 3).

Os níveis plasmáticos de *PAI-1* ativado foram discretamente diferentes em função dos genótipos do polimorfismo 4G5G, com medianas (Md) mais altas para os genótipos com 4G4G (16,5ng/mL, IQ=10,9-22,9) e 5G4G (13,8ng/mL, IQ=10,8-17,59) em comparação com 5G5G (13,2ng/mL, IQ=11,6-15,6), embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa ( $\rho = 0,67$ ) (Figura 1).

**Tabela 2** – Frequência de SNPs rs1799889 e distribuição alélica em pessoas com e sem SM em vivendo com HIV.

Genótipos	Total	SM+ N=69 N(%)	SM- N=118 N(%)	$\rho$
Polimorfismo 5G5G	16 (8,8%)	7 (10,1)	9 (8,0)	0,662
Polimorfismo 4G5G	158 (86,8%)	58 (84,1)	100 (88,5)	
Polimorfismo 4G4G	8 (4,4%)	4 (5,8)	4 (3,5)	
<b>Total</b>	<b>182</b>	<b>69</b>	<b>118</b>	
<b>Grupamentos genotípicos</b>				
Polimorfismo 5G5G		7 (10,1)	9 (8,0)	0,614
Polimorfismo 4G5G/ 4G4G †		62 (89,9)	104 (92)	
<b>Total</b>		<b>69</b>	<b>113</b>	
<b>Distribuição alélica</b>				
5G		72 (52,2)	118 (52,3)	
4G		66 (47,8)	108 (47,7)	
<b>Total</b>		<b>138 (100)</b>	<b>226 (100)</b>	

† Agrupamento de genótipos com presença de pelo menos um alelo 4G

A Tabela 4 mostra as médias de *PAI-1* ativado de acordo com a presença de SM, em cada categoria do polimorfismo 4G5G. Não houve associação estatisticamente significante entre o nível sérico de *PAI-1* ativado e SM ( $\rho = 0,49$ ).

## DISCUSSÃO

Nesse estudo a frequência de heterozigose para o polimorfismo 4G5G do *PAI-1* foi 86,8%. Embora a frequência alélica do 5G tenha sido 52,2%, a frequência de genótipos homozigóticos (13,2%) foi baixa, especialmente a do genótipo 4G4G que teve frequência de 4,2%. Não encontramos associação entre polimorfismo 4G5G e níveis plasmáticos do *PAI-1* ativado, nem com SM ou com seus componentes definidores isoladamente. Os níveis de *PAI-1* ativado não diferiram entre as pessoas com e sem SM.

**Tabela 3** – Variáveis biológicas, clínicas, hábitos de vida, indicadores metabólicos, relacionadas ao HIV e à TARV, de acordo com o polimorfismo 4G5G do *PAI-1* em pessoas vivendo com HIV/AIDS.

Variáveis	5G5G	4G5G/4G4G	$\rho$
Tamanho da amostra (N=182)	16	166	-
<b>Variáveis biológicas</b>			
Idade (anos)*	41,8 ± 7,8	40,4 ± 9,6	0,568
Sexo feminino**	11 (68,7%)	125 (74,0%)	0,651
<b>Variáveis Antropométricas</b>			
IMC (kg/m <sup>2</sup> )*	25,4 ± 4,3	24,7 ± 5,3	0,617
Circunferência abdominal (cm) ♀*	87,3 ± 7,9	86,2 ± 11,7	0,776
Circunferência abdominal (cm) ♂*	88,7 ± 9,4	85,1 ± 10,9	0,480
PAS **	124,7 ± 19,3	118,1 ± 18,1	0,173
PAD **	81,7 ± 14,7	80,5 ± 12,8	0,721
Dislipidemia **	14 (87,5%)	136 (81,9%)	0,576
<b>Variável de Hábitos de vida</b>			
Fumantes **	2 (12,5%)	29 (17,2%)	0,633
<b>Outros Indicadores metabólicos</b>			
Colesterol Total (mg/dL)*	207,3 ± 67,7	183,7 ± 51,2	0,098
Colesterol LDL (mg/dL)*	120,2 ± 72,2	101,5 ± 54,8	0,211
Colesterol HDL (mg/dL), ♀ ***	45 (38 - 45)	40,4 (35 - 51)	0,647
Colesterol HDL (mg/dL), ♂ ***	39,5 (37 - 54,3)	38,5 (34 - 47)	0,574
Triglicerídeos (mg/dL)***	150 (102 - 168)	137 (91 - 215)	0,931
Glicemia de jejum (mg/dL)***	89 (84 - 93)	88 (82 - 96)	0,827
<i>PAI-1</i> ativado (ng/mL)***	13,2 (11,6 - 15,6)	13,8 (10,8 - 17,9)	0,697
<b>Variáveis relacionadas ao HIV</b>			
CD4 ≤ 200/mm <sup>3</sup> **	4 (25,0%)	20 (12,0%)	0,144
CD4 ≤ 350/mm <sup>3</sup> **	6 (37,5%)	66 (39,8%)	0,86
Tempo de HIV (anos)*	3,96 ± 3,2	4,71 ± 4,2	0,482
<b>Variáveis relacionadas à TARV</b>			
Uso de ARV **	12 (75%)	126 (74,6%)	0,969
Tempo de TARV (anos)*	4,04 ± 3,6	4,25 ± 3,2	0,823

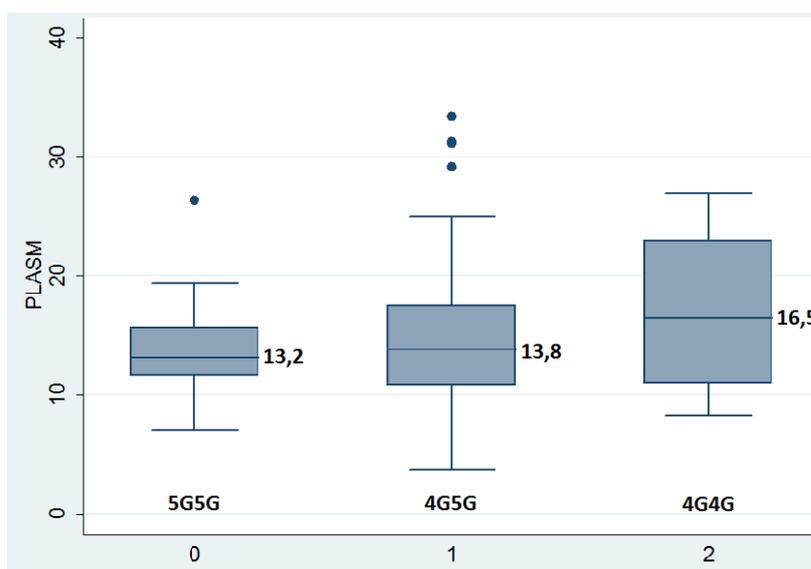
\* Média e Desvio Padrão

\*\* N e percentual correspondente

\*\*\* Medianas e intervalo interquartil

A frequência genotípica do polimorfismo 4G5G do *PAI-1* teve distribuição diferente das encontradas em populações etnicamente distintas da população brasileira. Sakhtehm, et

*al*<sup>27</sup>, encontraram uma freqüência de 44% para 4G e 55% para 5G em pessoas caucasianas. He *et al*<sup>11</sup> descreveram freqüência de 44,3% do alelo 4G e 55,7% do alelo 5G em pessoas asiáticas.<sup>28</sup> Narah *et al*<sup>18</sup> encontraram freqüência do alelo 4G de 13% entre nativos africanos, 54% entre indianos e 58% em caucasianos. Em nosso estudo a freqüência dos genótipos 4G4G e 5G5G foi menor do que a observada nas demais populações, ocorrendo exceção apenas quando a comparação é feita com a freqüência do 4G4G entre nativos da África do Sul; encontramos maior freqüência de 4G4G do que nesse grupo populacional específico. Acreditamos que o predomínio de heterozigóticos encontrado em nosso estudo pode ser justificado pela miscigenação de etnias ocorrida historicamente no nordeste do Brasil.



**Legenda:** PLASM = PAI-1 ativado, em ng/mL; 0= Genótipo 5G5G; 1= genótipo 4G5G; 2= genótipo 4G4G.

**Figura 1: Box plot com medianas, intervalos interquartis e intervalo de confiança de 95% de níveis de PAI-1 ativado de acordo com os genótipos do PAI-1 em pessoas vivendo com HIV/AIDS.**

**Tabela 4** – Níveis de *PAI-1* plasmático expresso em medianas de acordo com a presença de SM em pessoas vivendo com HIV/AIDS.

	SM -	SM +	$\rho$
N=182	117 (64%)	65 (36%)	
<b><i>PAI-1</i> (ng/mL)</b>	13,5 (10,2 - 17,1)	13,8 (11,0 – 18,7)	0,48 ‡
<b><i>PAI-1</i> (ng/mL) em genótipos com 4G</b>	13,4 (10,2 - 17,2)	14,7 (10,8 - 19,0)	0,34 †
<b><i>PAI-1</i> (ng/mL) em genótipo 5G5G</b>	14,1 (11,7 - 15,8)	12,7 (11,5-14,7)	0,49 †

Níveis de *PAI-1* expressos como mediana (intervalo interquartil)

(†) = Comparação de medianas de *PAI-1* plasmático para o mesmo genótipo entre pessoas com e sem SM.

(‡) = Comparação de medianas entre grupos com SM e sem SM.

Não encontramos associação entre polimorfismo 4G5G do gene da *SERPINE1* e os níveis plasmáticos de *PAI-1* ativado em pessoas vivendo com HIV/AIDS. Neste estudo, observamos apenas os valores absolutos dos níveis séricos de *PAI-1* ativado plasmático em cada grupo genotípico. Verificamos discretas elevações das medianas e valores maiores quanto mais 4G se tem no genótipo concordando com os trabalhos iniciais de pesquisa de associação de polimorfismo 4G5G com *PAI-1* plasmático.<sup>29,30,31,32</sup> Foram encontrados menores valores em pessoas com o genótipo 5G5G e valores maiores em pessoas com genótipo 4G4G. Este comportamento também foi percebido por outros autores,<sup>9,33,34,35</sup> mas com diferença estatisticamente significativa entre os genótipos e em pessoas não infectadas com HIV. Ou seja, nossos resultados parecem seguir a tendência do que já se descreve em alguns estudos prévios, o que pode sugerir que o tamanho da nossa amostra tenha sido insuficiente para detectar essa diferença. Também é possível que não tenhamos encontrado associação do *PAI-1* plasmático com homozigóticos devido ao baixo número de homozigotos que obtivemos.

Publicações mais recentes sugerem que a síntese do *PAI-1* sofre influências de diversos fatores externos,<sup>27,34,36,37,38</sup> como aqueles relacionados aos hábitos de vida. Também há evidências de que outros polimorfismos além do 4G5G,<sup>33 29</sup> no mesmo cromossomo ou até em outros cromossomos estejam associados à síntese do *PAI-1* plasmático. De Lange<sup>34</sup> estudou os polimorfismos C428T e G429A, na região -844 do cromossomo 7 e, embora não tenha encontrado associação dos mesmos com o polimorfismo 4G5G (região -675), verificou uma associação entre a síntese de *PAI-1* a ocorrência de homólogos de polimorfismos na região -844, em indivíduos que migraram para a zona urbana e adquiriram novos hábitos de vida. Assim, apesar de alguns estudos terem demonstrado uma associação dos genótipos contendo 4G e níveis mais altos de plasminogênio em pessoas sem HIV,<sup>18,26,28,34,39</sup> estes

achados nos sugerem que a associação dos polimorfismos com os níveis de *PAI-1* ativado pode ser complexa, alterando-se ao longo do tempo e pela influencia de outros fatores. Portanto, o caráter transversal do nosso estudo pode ter sido uma limitação do nosso trabalho. Seria recomendável a realização de outros longitudinais com dosagens repetidas ao longo do tempo, bem como com observação de outros fatores que poderiam influenciar essa modulação.

Há evidências de que outras variáveis, como proteína C reativa ultrasensível, Interleucinas<sup>40</sup>, pré-calcitonina, ativador tissular do plasminogênio e uroquinase tipo plasminogênio<sup>22</sup>, estejam também associadas com a síntese de *PAI-1* plasmático, mas o estudo das mesmas estavam além dos objetivos do nosso trabalho.

Não há consenso quanto aos valores normais de *PAI-1* ativado. A faixa de referencia na literatura é ampla.<sup>33 29</sup> O valor do *PAI-1* ativado encontrado em nosso estudo se aproximou ao descrito em espanhóis vivendo com HIV, com imunossupressão grave e co-infectados por herpes vírus ou citomegalovírus (14,6 ng/mL  $\pm$  3,7 ng/mL).<sup>36 32</sup> Outros autores constataram níveis mais elevados de *PAI-1* ativado do que os nossos. Na Itália, estudo realizado com PLWHA usando ARV, os valores encontrados para níveis de *PAI-1* foram muito elevados quando comparados à todos os demais publicados: 60,9% apresentaram níveis de *PAI-1* maiores que 112 ng/mL.<sup>33</sup> Chama a atenção o fato de nossa população, composta por pessoas atendidas em ambulatório, a maioria com CD4>350/mm<sup>3</sup> e usuária de ARV, ter valores de *PAI-1* ativado semelhantes aos de pessoas com doença avançada e CD4<350/mm<sup>3</sup>.

A TARV tem aumentado significativamente a sobrevida das pessoas vivendo com HIV/AIDS. mas também tem sido associada ao aparecimento de alterações metabólicas nesses indivíduos, como o desenvolvimento de lipodistrofia e de SM.<sup>16,27, 41</sup> A influencia de medicamentos na expressão de *PAI-1* já havia sido reportada por Yki-Jäärvinen *et al* em 2003<sup>24</sup> e depois foi afirmada por Wang *et al*, em 2008<sup>9</sup>. O primeiro, quando estudou lipodistrofia (LD) em grupo de pessoas vivendo com HIV/AIDS verificou que a Rosiglitazone promovia redução, não apenas dos níveis séricos de *PAI-1*, como de RNAm de *PAI-1* e dos depósitos de gordura hepática. E o segundo, quando verificou redução significativa ( $p < 0,05$ ) da expressão de *PAI-1* no grupo de pessoas em uso de Sinvastatin. Ambas as observações são concordantes com a percepção de Hadigan *et al*<sup>42</sup> (2001) que descreveu a redução da expressão e da concentração de ativador de plasminogênio tecidual (tPA), demonstrando regulação por agentes externos à fisiologia humana. Por sua vez, Kristoffersen *et al*<sup>21</sup> não perceberam influencia da TARV nos níveis de *PAI-1*, mesmo após 14 meses de uso. Alterações de concentração só foram percebidas nos marcadores de disfunção endotelial: sICAM-1, E-Selectim e PCRus. Não está claro, portanto, a influencia dos ARV no níveis de

*PAI-1*. O estudo do efeito de medicamentos sobre os níveis de *PAI-1* não foi objeto deste trabalho.

Em resumo, na população estudada não foi encontrada associação entre genótipos do polimorfismo 4G5G do gene da *SERPINE1* e níveis plasmáticos de *PAI-1*. Também não verificamos associação do polimorfismo 4G5G e dos níveis de *PAI-1* com SM. Não obstante, podemos supor que a população estudada, tanto apresenta distribuição genotípica particular como comportamento distinto e que, talvez, a expressão fenotípica sofra influencia de outros fatores alheios à infecção por HIV e medicamentos.

Para elucidar essas questões recomendamos novos estudos que incluem o polimorfismo do *PAI-1* e outros fatores, possivelmente envolvidos com a expressão do *PAI-1*: marcadores de inflamação e outros polimorfismos Proxy. Estudos tipo coorte prospectiva, considerando esquemas de TARV, com observação de estágios antes e após a introdução da terapia.

## Agradecimentos

Suporte Financeiro:

Ministério da Saúde do Brasil/ Programa DST/AIDS/UNESCO (CSV 185/07 – Projeto AS 4917/07).

Os autores foram parcialmente, financiados pelo Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) – Bolsa de estudo 308590/2013-9 para D.B.M.F., 310911/2009-5 para H.R.L.M., 301779/2009-0 para M.F.P.M., 300917/2006-6 para R.A.A.X.

Laboratório de Retrovirologia da UNIFESP-SP/Brasil e Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical/ Departamento Medicina Tropical/ UFPE-PE/Brasil.

## REFERÊNCIAS

1. Hooshyar D, Hanson DL, Wolfe M. Trends in perimortal conditions and mortality rates among HIV-infected patients. *AIDS*. 2007 Oct 1;21(15):2093-100.
2. Alvarez C, Salazar R, Galindez J, *et.al*. Metabolic syndrome in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy in Latin America. *Braz J Infect Dis* 2010; 14:256-263.
3. *UNAIDS* report on the global AIDS epidemic 2013.
4. CANDIANI, TMS, *et.al*. Impact of highly active antiretroviral therapy (HAART) on the incidence of opportunistic infection, hospitalizations and mortality among children and adolescents living with HIV/AIDS in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. *Cad Saude Publica* . 2007;23 Suppl 3:S414-23.

5. Duong M, Buisson M, Cottin Y, Piroth L, Lhuillier I, Grappin M, Chavanet P, Wolff JE, Portier H: Coronary heart disease associated with the use of human immunodeficiency virus (HIV)-1 protease inhibitors: report of four cases and review. *Clin Cardiol* 24:690–694, 2001.
6. Gazzaruso C.; Sacchi P.; Garzaniti A.; Fratino P.; Bruno R.; Filice G. Prevalence of metabolic syndrome among HIV patients. *Diabetes Care*, 25:1253-1254, 2002.
7. Jericó C. Knobel H, Montero M, Ordoñez-Llanos J, Guelar A, Gimeno JL, Saballs P, López-Colomé JL, Pedro-Botet J. Metabolic syndrome among HIV-infected patients. *Diabetes Care*, [s.l.] v.28, p.144-149, 2005.
8. Troian, MC, Castilhos C, Castilhos M, Bialeski N. Frequência de síndrome metabólica e dislipidemia em pessoas HIV-positivos em uso de terapia anti-retroviral. *Jornal brasileiro de medicina*. 2005; 89(3):31-34.
9. Wang L, Rockwood J, Zak D, Devaraj S, Jialal I. Simvastatin reduces circulating plasminogen activator inhibitor 1 activity in volunteers with the metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord*. 2008 Jun;6(2):149-52. doi: 10.1089/met.2008.0012.]
10. Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C. The American Heart Association, the National Heart, Lung, and Blood Institute: Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/ American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* [s.l.] 109:433–438, 2004.
11. He G, Andersen O, Haugaard SB, Lihn AS, Pedersen SB, Madsbad S, Richelsen B. Plasminogen activator inhibitor type 1 (*PAI-1*) in plasma and adipose tissue in HIV-associated lipodystrophy syndrome. Implications of adipokines. *Eur J Clin Invest*. [s.l.] Sep;35(9):583-90, 2005.
12. Anand SS, Yi Q, Gerstein H, Lonn E, Jacobs R, Vuksan V, Teo K, Davis B, Montague P, Yusuf S. Relationship of Metabolic Syndrome and Fibrinolytic Dysfunction to Cardiovascular Disease. *Circulation* 2003;108:420-425. DOI: 10.1161/01.CIR.0000080884.27358.49.
13. Juhan-Vague I, Thompson SG, Jespersen J. Involvement of the hemostatic system in the insulin resistance syndrome. A study of 1500 patients with angina pectoris. The ECAT Angina Pectoris Study Group. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1865–1873.
14. Hamsten A, De Faire U, Waldius G, Dahlén G, Szamosi A, Landou C, Blomback M and Wiman B. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk for recurrent myocardial infarction. *Lancet* [s.l.] (2): 3-9, 1987.
15. Lopes C, Dina C, Durand E, Froguel P. *PAI-1* polymorphisms modulate phenotypes associated with the metabolic syndrome in obese and diabetic Caucasian population. *Diabetologia*. [s.l.] Sep;46(9):1284-90, 2003.

16. Ozel DD, Aktas H, Akar N. The effect of plasminogen activator inhibitor-1 -675 4G/5G polymorphism on *PAI-1* gene expression and adipocyte differentiation. *Clin Appl Thromb Hemost.* [s.l.] Oct;14(4):438-46. Epub 2007 Dec 26, 2008.
17. Martínez-Calatrava MJ, Martínez-Larrad MT, Zabena C, González-Sánchez JL, Fernández-Pérez C, Serrano-Ríos M. The 4G/4G *PAI-1* genotype is associated with elevated plasma *PAI-1* levels regardless of variables of the metabolic syndrome and smoking status. A population-based study in Spanish population. *Diabetes Obes Metab.* [s.l.] Jan;9(1):134-5, 2007.
18. NaraH NH, Chetty N, Crowther NJ. The influence of metabolic syndrome components on plasma *PAI-1* concentrations is modified by the *PAI-1* 4G/5G genotype and ethnicity. *Atherosclerosis.* [s.l.] Jan;196(1):155-63. Epub 2007 Apr 30, 2008.
19. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, *et.al.* Harmonizing the Metabolic Syndrome: **A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention**; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120:1640-1645.
20. Van-Vonderen MG, Hassink EA, Van-Agtmael MA, Stehouwer CD, Danner SA, Reiss P, Smulders Y. Increase in carotid artery-media thickness and arterial stiffness but improvement in several markers of endothelial function after initiation of antiretroviral therapy. *J Infect Dis,* [s.l.] Apr 15; 199(8): 1186-94, 2009.
21. Kristoffersen US, Kofoed K, Kronbong G, Giger AK, Kjaer A, Lebech AM. Reduction in circulating markers of endothelial dysfunction in HIV-infected patients during antiretroviral therapy. *HIV Med* [s.l.] Feb; 10(2):79-87, 2009.
22. Sporer B, Koedel U, Popp B, Paul R, Pfister HW. Evaluation of cerebrospinal fluid uPA, *PAI-1*, and soluble uPAR levels in HIV-infected patients. *J Neuroimmunol.* [s.l.] Jun; 163 (1-2): 190-4, 2005.
23. De Larrañaga G, Galich A, Puga L, Alonso B, Benetucci J. Insulin resistance status is an important determinant of *PAI-1* levels in HIV-infected patients, independently of the lipid profile. *J Thromb Haemost.* 2004 Mar;2(3):532-4.
24. Yki-Järvinen H, Sutinen J, Silveira A, Korshennikova E, Fisher RM, Kannisto K, Ehrenborg E, Eriksson P, Hamsten A. Regulation of plasma *PAI-1* concentrations in HAART-associated lipodystrophy during rosiglitazone therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* [s.l.] Apr 1; 23 (4): 688-94, 2003.
25. Friedewald, WT, Levy R, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge *Clin Chem,* 1972, 18: 499-504.

26. Bonyadi M, Shaghghi Z, Haghi M, Dastgiri S. Plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphism in Iranian Azeri Turkish patients with FMF disease and its association with amyloidosis. *Eur J Pediatr.* 2013 Jan;172(1):91-8. doi: 10.1007/s00431-012-1844-z. Epub 2012 Oct 5. PMID: 23052617 [PubMed - indexed for MEDLINE]
27. Sakhteh M, Poopak B, Amirizadeh N, Shamshiri A, Bagheri A, Faranoush M. Polymorphism and synergism of angiotensin-converting enzyme (ACE) and plasminogen activator inhibitor-1 (*PAI-1*) genes in coronary artery disease. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2014 Dec 12. pii: 1470320314561247. [Epub ahead of print] PMID: 25501306 [PubMed - as supplied by publisher]
28. Mostafa BH, Mokhtar DA, Badr AM and Gamal el Din NM. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism in hemodialysis patients with cardiovascular disease. *Egyptian Journal of Haematology* 2013, Vol 38 No 1: 1110-1067.
29. Boekholdt SM, Bijsterveld NR, Moons AH, Levi M, Buller HR, Peters RJ. Genetic variation in coagulation and fibrinolytic proteins and their relation with acute myocardial infarction: a systematic review. *Circulation.* 2001;104:3063–3068.
30. Juhan-Vague I, Pyke SD, Alessi MC, Jespersen J, Haverkate F, Thompson SG. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris: ECAT Study Group: European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. *Circulation.* 1996;94:2057–2063.
31. Nordt TK, Lohrmann J, Bode C. Regulation of *PAI-1* expression by genetic polymorphism. Impact on atherogenesis. *Thromb Res.* 2001;103 Suppl 1:S1-5.
32. Rallidis LS, Gialeraki A, Merkouri E, Liakos G, Dargatzis N, Sionis D, *et.al.* Reduced carriership of 4G allele of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism in very young survivors of myocardial infarction. *J Thromb Thrombolysis.* 2010;29(4):497-502.
33. Diamanti-Kandarakis E, Palioniko G, Alexandraki K, Bergiele A, Koutsouba T, Bartzis M. The prevalence of 4G5G polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1 (*PAI-1*) gene in polycystic ovarian syndrome and its association with plasma *PAI-1* levels. *Eur J Endocrinol.* 2004 Jun;150(6):793-8. PMID: 15191349 [PubMed - indexed for MEDLINE]
34. De Lange Z, Rijken DC, Hoekstra T, Conradie KR, Jerling JC, Pieters M. In black South Africans from rural and urban communities, the 4G/5G *PAI-1* polymorphism influences *PAI-1* activity, but not plasma clot lysis time. *PLoS One.* 2013 Dec 30;8(12):e83151. doi: 10.1371/journal.pone.0083151. eCollection 2013. PMID:24386152 [PubMed - indexed for MEDLINE]

35. Lima LM. **Parâmetros bioquímicos, hemostáticos e moleculares em indivíduos submetidos à angiografia coronariana.** 2008. 171 f.: II. TESE DE DOUTORAMENTO – UFMG, Belo Horizonte – MG.
36. Masiá M, Robledano C, Ortiz de la Tabla V, Antequera P, López N, Gutiérrez F. Increased carotid intima-media thickness associated with antibody responses to varicella-zoster virus and cytomegalovirus in HIV-infected patients. *PLoS One*. 2013 May 23;8(5):e64327. doi: 10.1371/journal.pone.0064327. Print 2013. PMID: 23717597 [PubMed - indexed for MEDLINE]
37. Romagnuolo R, Marcovina SM, Boffa MB, Koschinsky ML. Inhibition of plasminogen activation by apo(a): role of carboxyl-terminal lysines and identification of inhibitory domains in apo(a). *J Lipid Res*. 2014 Apr; 55(4):625-34. Doi: 10.1194/jlr.M036566.
38. Padilla S, Masiá M, García N, Jarrin I, Tormo C, Gutiérrez F. Early changes in Inflammatory and pro-thrombotic biomarkers in patients initiating antiretroviral therapy with Abacavir or Tenofovir. *BMC Infectious Diseases* 2011, 11:40 Doi:10.1186/1471-2334-11-40.
39. Tofler GH; Massaro J; O'Donnell CJ; Peter W Wilson; Vasan RS; Sutherland PA; Lipinska I; Meigs JB; Levy D; D'Agostino RB. Plasminogen Activator Inhibitor (*PAI-1*) and Risk of Cardiovascular Disease: The Framingham Heart Study. *Circulation*. 2009;120:S454.
40. De Luca A, De Gaetano Donati K, Colafigli M, Cozzi-Lepri A, De Curtis A, Gori A, Sighinolfi L, Giacometti A, Capobianchi MR, D'Avino A, Iacoviello L, Cauda R, D'Arminio Monforte A. The association of high-sensitivity c-reactive protein and other biomarkers with cardiovascular disease in patients treated for HIV: a nested case-control study. *BMC Infect Dis*. 2013 Sep 3;13:414. doi: 10.1186/1471-2334-13-414.
41. Caron M, Vigouroux C, Bastard JP, Capeau J. Antiretroviral-related adipocyte dysfunction and lipodystrophy in HIV-infected patients: Alteration of the PPAR $\gamma$ -dependent pathways. *PPAR Res* 2009; 2009:507141
42. Hadigan C, Meigs JB, Rabe J, D'Agostino RB, Wilson PW, Lipinska I, Tofler GH, Grinspoon SS; Framingham Heart Study. Increased *PAI-1* and tPA antigen levels are reduced with metformin therapy in HIV-infected patients with fat redistribution and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. [s.l.] Feb; 86(2): 939-43, 2001.

## 6.2. ARTIGO 2 –

### **Associação do Polimorfismo na região -675 do gene *SERPINE1* (*PAI-1*) e dos níveis de *PAI-1* ativado com fatores de risco cardiovascular em pessoas vivendo com HIV/AIDS em Pernambuco-Brasil.**

Após a introdução da terapia antirretroviral combinada (TARV), houve aumento da expectativa de vida das pessoas com HIV e conseqüente exposição prolongada às drogas antirretrovirais.<sup>1</sup> Por outro lado, a TARV ainda não erradica o HIV e as pessoas infectadas com HIV estão expostas cronicamente à citocinas inflamatórias, relacionadas tanto a infecção, quanto à resposta à TARV.<sup>2</sup> Essas alterações, acrescidas ao envelhecimento das pessoas, têm se refletido em uma mudança significativa do perfil epidemiológico dessa população. Observa-se redução da mortalidade devido a causas relacionadas à AIDS e aumento da mortalidade devido a eventos não relacionados à AIDS<sup>3</sup>. Dentre as doenças não relacionadas à AIDS, as doenças cardiovasculares (DCV) se destacam pela sua alta freqüência.<sup>4</sup>

Uma forma comumente utilizada para estimar risco de eventos cardiovasculares é a utilização de equações que combinam vários fatores de risco e fornecem uma estimativa quantitativa de risco para DCV em um determinado período de tempo. O escore de Framingham é uma dessas equações, amplamente utilizado na população geral<sup>5</sup>, e mais recentemente em pessoas infectadas com HIV.<sup>6,7</sup>

A patogenia dos eventos cardiovasculares nessa população é complexa, uma vez que envolve fatores inflamatórios relacionados à infecção, que se mantém mesmo com o controle da infecção após introdução da TARV.<sup>2</sup> Há a participação dos fatores de risco tradicionais, relacionados ao envelhecimento e às complicações metabólicas desencadeadas pela TARV.<sup>8,9</sup> Este status inflamatório parece favorecer a disfunção endotelial, distúrbios da coagulação e fibrinólise, que são as primeiras alterações da doença aterosclerótica.<sup>10</sup>

Dentre as citocinas endoteliais, *PAI-1* é o principal fator inibidor da fibrinólise<sup>11</sup> e disfunções associadas a essa citocina têm sido associadas à doença cardiovascular.<sup>12</sup> Os níveis plasmáticos do *PAI-1* podem sofrer influência de fatores como idade, sexo, obesidade, tabagismo, etnia e polimorfismos genéticos.<sup>13</sup> O polimorfismo mais estudado é o 4G5G, que é a inserção ou exclusão de nucleotídeo na região promotora do gene da *SERPINE1*. Há relatos de que a presença do alelo 4G implique em níveis mais elevados de *PAI-1*<sup>14</sup> e possivelmente estejam associados à DCV.<sup>15</sup> Essas associações são mais estudadas em pessoas sem HIV.<sup>14,15</sup> Em pessoas vivendo com HIV/AIDS, alguns autores encontraram níveis mais elevados de *PAI-1* nessa população do que os níveis encontrados em pessoas sem HIV.<sup>16,17</sup> Há discordância quanto a associação de níveis elevados de *PAI-1* e fatores de risco para DCV.<sup>18,19</sup> Pouco se sabe sobre a participação do polimorfismo 4G5G no risco cardiovascular em infectados pelo HIV.

Esse estudo tem como objetivo verificar se o polimorfismo 4G5G do *PAI-1* e os níveis plasmáticos do *PAI-1* ativados estão associados com maior risco estimado para eventos cardiovasculares elevados, e com os componentes usados para estimar risco pelo escore de *Framingham*.

## MÉTODOS

### População e Desenho do Estudo

Utilizamos uma estratégia de caso controle para verificar a associação do polimorfismo e dos níveis plasmáticos de *PAI-1* ativado com risco cardiovascular.

Este estudo é parte da *Cohort* AIDS-PE, iniciada em julho de 2007, composta por mais de 2074 pessoas infectadas com HIV em atendimento ambulatorial em dois serviços de referência para HIV do estado de Pernambuco, Brasil.

Foram incluídas pessoas vivendo com HIV/AIDS, com 18 anos ou mais, atendidas ambulatorialmente entre 2007 e 2012. Foram excluídas as pessoas que apresentaram doença relacionada à AIDS nos três meses anteriores às entrevistas.

Devido à escassez de estudos envolvendo pessoas vivendo com HIV/AIDS que determinassem a frequência do polimorfismo na região -675 promotora *PAI-1* e sua associação com níveis de *PAI-1* ativado, bem como com risco para DCV, nesta pesquisa foram utilizados como referência estudos em população soronegativa para o HIV para determinar o tamanho da amostra.

A amostra do estudo de prevalência do polimorfismo foi estimada tomando como base o trabalho de *Martinez-Calatrava*<sup>20</sup>, no qual a frequência do polimorfismo 4G/4G foi de 37%.

Tendo em vista um nível de confiança de 95% e um erro esperado de 7%, a amostra estimada foi de 173 pessoas. Entre estes foram identificados aqueles com alto risco cardiovascular (casos) e com baixo risco cardiovascular (controles).

As pessoas foram sorteadas entre os participantes da *Cohort AIDS-PE*.

### **Coleta e processamento de dados**

Após assinatura de consentimento livre e esclarecido, os participantes responderam a um questionário padronizado e tiveram pressão arterial e medidas antropométricas aferidas por uma equipe treinada. Informações sobre TARV, doenças relacionadas ao HIV e valores de CD4 foram obtidas nos prontuários médicos e transcritas em formulários específicos.

### **Dosagens séricas, plasmáticas e pesquisa de Polimorfismos**

Amostras de soro, plasma e sangue total foram coletadas, nos dias 0 e 30 após admissão do paciente ao estudo. Soro e sangue total foram armazenados a -20°C e plasma a -80°C até o momento da análise. As coletas foram feitas sempre entre 8 e 11h da manhã. O plasma serviu à determinação de *PAI-1*, o soro foi empregado para dosagens de colesterol total (CHOL), colesterol lipoproteína de alta densidade (HDL), Glicemia (GJ), triglicerídeos (TG). O sangue total foi utilizado para a quantificação de CD4 e obtenção de DNA para determinação do polimorfismo.

A quantificação de CD4 foi executada em equipamento FACS Calibur three color flow cytometer (Becton Dickinson); as dosagens bioquímicas, com amostras coletadas após jejum de 12h, foram analisadas por método enzimático em equipamento Cobas Mira (Roche), todos submetidos à gestão da qualidade, com variação aceitável de 5% da média dos controles. O valor do LDL foi calculado de acordo com a equação de Friedewald<sup>19</sup>.

Para dosagem de plasminogênio plasmático foi usado o kit KHC3071 (Human Invitrogen Corporation). Para determinação dos polimorfismos, o DNA foi extraído com kit MINI SPIN PLUS (BIOPUR), com emprego de Proteinase K. Depois cada extrato foi submetido à dosagem de DNA por  $\mu\text{L}$  em equipamento Nanodrop 2000 (Thermo Cientific), com aceitação de extratos contendo no mínimo 3 ng/ $\mu\text{L}$ . Os extratos foram armazenados em microplaca livre de DNases e RNases e congeladas a -20°C até execução da reação em cadeia da polimerase (PCR), no Centro de Genomas da UNIFESP-SP/ Brasil, com protocolo descrito por Bonyadi e cols<sup>19</sup> e seqüenciamento gênico de 10% das amostras amplificadas para confirmação dos achados na PCR. A detecção dos polimorfismos na região -675 4G5G promotora do *PAI-1* foi feita usando como controle o prime 5'-AAGCTTTTACCATGGTAACCCCTGGT-3', como prime comum o 5'-

TGCAGCCAGCCACGTGATTGTCTAG-3' (256-pb) e alelo específicas 5G e 4G, respectivamente, 5'-AGAGTCTGGACACGTGGGGG-3' e 5'-AGAGTCTGGACACGTGGGG-3' (138-pb, cada).

## Definição de termos

### VARIÁVEL DEPENDENTE

#### Risco estimado para doenças cardiovasculares (RDCV)

Para estimar o risco para doenças cardiovasculares, foi empregado o escore de *Framingham* (Anexo C). Nesse modelo, calcula-se a chance, em percentual, de um indivíduo apresentar um evento cardiovascular no período de dez anos. As pessoas são estratificadas em risco baixo (<10%), risco moderado (10 a 20%) e alto risco (>20%). Nesse estudo, agrupamos as pessoas em duas categorias: Baixo risco (<10%) e risco alto ( $\geq 10\%$ ), incluindo-se as pessoas com risco moderado e alto em uma única categoria.

#### Outros fatores de risco cardiovasculares

Além do risco para DCV estimado pelo escore de Framingham, os seguintes fatores de risco para doença cardiovascular foram analisados separadamente:

- **Co-morbidades clínicas:** hipertensão (HAS), diabetes mellitus (DM), excesso de peso e dislipidemia;
- **Laboratoriais:** TG, LDL, TG, HDL, razão TG/HDL, Colesterol não HDL.

Hipertensão foi definida como a pressão arterial sistólica (PAS) >130 mmHg ou pressão arterial diastólica (PAD) >85 mmHg, ou uso de anti-hipertensivos no momento da entrada no estudo. Glicemia de jejum >125 mg/dL, ou uso de hipoglicemiante oral no momento da entrada no estudo foi categorizada como diabetes (DM). Os indivíduos foram classificados de acordo com o índice de massa corporal (IMC) em: abaixo do peso (<18,5kg/m<sup>2</sup>), com peso normal (18,5 a 24,9kg/m<sup>2</sup>), e excesso de peso ( $\geq 25$ kg/m<sup>2</sup>), com agrupamento das pessoas com sobrepeso (25 a 29,9kg/m<sup>2</sup>) e obesidade ( $\geq 30$ kg/m<sup>2</sup>) em uma única categoria. Definiu-se hipercolesterolemia quando CT  $\geq 200$ mg/dL ou uso de hipolipemiantes, LDL elevado se  $\geq 130$ mg/dL. "Colesterol não HDL" foi calculado, subtraindo-se o valor do Colesterol HDL (HDL) do valor do CT, sendo considerado alto se valores acima de 160mg/dL. A razão TG/HDL foi utilizada como marcador de risco cardiovascular relacionado a um perfil lipídico desfavorável, sendo considerada alterada quando maior ou igual a 3,8.

Dislipidemia foi julgada presente se pelo menos um dos seguintes parâmetros estivessem alterados: CT, LDL, HDL, TG ou uso de hipolipemiantes.

## VARIÁVEIS DE EXPOSIÇÃO

O **polimorfismo na região -675 promotora do inibidor do ativador do plasminogênio 1 (PAI-1)** é decorrente da substituição ou ausência de uma guanina no *loci* -675 do gen promotor do *PAI-1*. O genótipo selvagem é o 5G5G; a heterozigose para o polimorfismo é definida pela substituição de uma base em um único alelo, caracterizando o genótipo 4G5G; a homozigose para o polimorfismo é definida pela substituição da base nos dois alelos caracterizando o genótipo 4G4G. Em nosso estudo, os genótipos 4G4G e 4G5G foram agrupados em uma única categoria.

Devido à falta de padronização de valores de referência amplamente aceitos, o **plasminogênio** foi analisado como variável contínua. Também foi analisado categoricamente, agrupado em quartis, de acordo com a distribuição encontrada na amostra.

## VARIÁVEIS CONSIDERADAS PARA AJUSTE DO MODELO FINAL:

As seguintes variáveis foram consideradas para ajustes do modelo multivariado: biológicas (sexo e idade), hábitos de vida (tabagismo), relacionadas ao HIV (valor de CD4, tempo de diagnóstico do HIV) e relacionadas à TARV (uso de ARV, tempo de uso de ARV).

Tabagismo foi categorizado como “uso atual” e “uso passado” ou “não uso”. Para CD4 foram considerados dois pontos de corte:  $<350$  células/mm<sup>3</sup> e  $<200$  células/mm<sup>3</sup>. Tempo de diagnóstico do HIV foi referido pelo participante e confirmado no prontuário médico. As informações sobre a TARV foram retiradas do prontuário médico. Foi considerado “uso de TARV” se na data da entrevista o indivíduo estivesse em uso de antirretrovirais. Tempo de TARV foi avaliado como variável contínua, de acordo com a data do início da TARV obtida no prontuário médico.

## Plano de tabulação e análise dos dados

Para a descrição da população calculamos distribuição de frequências, médias com seus respectivos desvios padrões. Para comparação de médias foi empregado o teste *t student*. A associação do polimorfismo do *PAI-1* ativado com risco para DCV e demais fatores de risco cardiovasculares foi testada por teste  $\chi^2$  de *Pearson*. A medida de associação de

variáveis paramétricas foi estimada pelo *Odds ratio* com seus respectivos intervalos de confiança.

Os dados foram digitados em dupla entrada e armazenados em banco exclusivo, utilizando o programa SQL Server 2000 (Microsoft) e Genexus (Version 7.5, Artech Consultores). A análise estatística foi feita usando o programa Stata 12.0. Para todas as comparações, um valor de  $p < 0,05$  foi considerado significativo.

## RESULTADOS

De 2074 participantes da Cohort AIDS-PE elegíveis para esse estudo, foram sorteados 185. Destes, 23 não tinham todas as informações para quantificação do risco para DCV pelo escore de Framingham e foram excluídos, totalizando 162 participantes.

A Tabela 1 mostra as médias e freqüências das variáveis estudadas na população geral e na população com risco para DCV alto e baixo. A média de idade foi de aproximadamente 40 anos e a maioria das pessoas era do sexo feminino. Quase 40% dos participantes tinham hipertensão, próximo da metade tinha excesso de peso e 80% apresentava dislipidemia. Quanto à infecção, a maioria estava usando ARV e 60% tinha CD4  $>350$  células/cm<sup>3</sup>. As médias de tempo de diagnóstico do HIV e de uso de ARV foram maiores do que quatro anos.

A freqüência do polimorfismo 4G5G do *PAI-1* encontrada nesse estudo está exposta na Tabela 2.

A média do *PAI-1* ativado foi de 14,4ng/mL ( $\pm 5,5$ ng/mL). Os níveis mais altos foram encontrados nas pessoas com polimorfismo 4G4G e risco para DCV elevado. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os níveis de *PAI-1* ativado das pessoas quanto ao risco para DCV nas diferentes categorias de polimorfismo, como mostra a Tabela 2.

Não encontramos associação entre a presença do polimorfismo 4G4G/4G5G com risco para DCV elevado, nem em análise univariada ( $OR=0,7$ ;  $IC95\%=0,1$  a  $3,6$ ;  $p=0,7$ ), nem após ajuste por sexo e idade (Tabela 3).

Quando avaliamos a associação do polimorfismo 4G5G do *PAI-1* com fatores de risco tradicionais para DCV encontramos maior freqüência de pessoas com CT elevado, assim como com colesterol não HDL entre aqueles com genótipo 5G5G (Tabela 3). Não encontramos associação do polimorfismo com as demais variáveis estudadas.

**Tabela 1** - Características gerais da população estudada.

<b>Dados da população estudada</b>	<b>Todos</b>	<b>RDCV baixo</b>	<b>RDCV alto</b>	<b><math>\rho</math></b>
Tamanho da amostra (N)	162	145	17	
<b>Variáveis Biológicas</b>				
Idade (anos) *	40,52 ± 9,2	39,3 ± 8,7	50,9 ± 6,3	0,001
Mulheres – N (%)	118 (72,8)	108 (74,5)	10 (58,8)	0,17
<b>Variáveis antropométricas</b>				
IMC (kg/m <sup>2</sup> )*	24,7 ± 5,3	24,5 ± 5,3	26,7 ± 4,7	0,09
Circunferência abdominal ♀ *	85,9 ± 11,6	85,6 ± 11,6	89,1 ± 12,4	0,4
Circunferência abdominal ♂ *	85,5 ± 10,8	84,7 ± 9,7	95,2 ± 12,8	0,02
PAS (mmHg)*	118,4 ± 18,5	116,8 ± 17,9	132,6 ± 17,5	< 0,001
PAD (mmHg)*	80,8 ± 13,5	79,5 ± 13,2	91,9 ± 10,6	< 0,001
<b>Hábitos de vida</b>				
Fumantes – N (%)	26 (16,1)	21 (14,5)	5 (29,4)	0,11
<b>Variáveis laboratoriais</b>				
Colesterol Total (mg/dL)*	184,9 ± 49,8	182, 1 ± 51,2	208,8 ± 26,8	<b>0,03</b>
Colesterol LDL (mg/dL)*	111,9 ± 51,9	109,7 ± 53,6	131,8 ± 25,1	0,1
Colesterol HDL (mg/dL), ♀ *	44,6 ± 13,5	45,2 ± 13,9	38,9 ± 5,7	0,16
Colesterol HDL (mg/dL), ♂ *	42,3 ± 3,4	43,8 ± 13,7	34,9 ± 8,7	0,07
Triglicerídeos (mg/dL)*	178 ± 131,1	167,1 ± 127	271,6 ± 132	0,002
Glicose sérica (mg/dL)*	92,7 ± 24,7	91,7 ± 22,4	101,5 ± 39	0,12
CNHDL (mg/dL)*	140,9 ± 51,8	137,3 ± 52,8	172,1±27,8	0,008
TG/HDL*	4,6 ± 3,7	4,1 ± 3,3	8,01 ± 5,1	< 0,001
<b>Variáveis relacionadas ao HIV</b>				
CD4 ≤ 200/mm <sup>3</sup> – N (%)	21 (13)	20 (13,7)	1 (5,9)	0,34
CD4 ≤ 350/mm <sup>3</sup> – N (%)	66 (40,7)	63 (43,4)	3 (17,6)	0,03
Tempo de HIV (anos)*	4,6 ± 4,2	4,4 ± 3,9	6,2 ± 5,8	0,09
<b>Variáveis relacionadas à TARV</b>				
Tempo de TARV (anos)*	4,2 ± 3,3	4,1 ± 3,2	5,2 ± 3,7	0,23
Uso de TARV – N (%)	122 (75,3)	109 (75,2)	13 (76,5)	0,9
<b>Variáveis clínicas</b>				
Dislipidemia – N (%)	133 (82,1)	116 (80)	17 (100)	<b>0,04</b>
HAS – N (%)	62 (38,3)	48 (33,1)	14 (82,3)	<0,001
DM – N (%)	8 (4,9)	3 (2,1)	5 (29,4)	<0,001
Excesso de peso – N (%)	72 (44,4)	60 (41,4)	12 (70,6)	0,054
<i>PAI-1</i> ativado*	14,4 ± 5,5	14,4 ± 5,3	14,6 ± 7,1	0,9

\* média e desvio padrão

CNDHL = Colesterol não HDL

RDCV = Risco para doença cardiovascular

**Tabela 2** - Frequência do polimorfismo 4G5G do *PAI-1* e níveis plasmáticos de *PAI-1* ativado em pessoas vivendo com HIV/AIDS de acordo com o risco para doenças cardiovasculares (RDCV) estimado pelo escore de *Framingham*.

	RDCV baixo	RDCV alto	$\rho$	Total da população
Polimorfismo <b>4G4G</b> - N(%)	6 (4,1%)	2 (11,8%)		8 (4,9%)
<b>PAI-1 ativado</b> (ng/ml) $\pm$ DP	16,8 (7,3)	17,5 (9,2)	0,9	16,9 (7,1)
Polimorfismo <b>4G5G</b> - N(%)	126 (86,9%)	13 (76,4%)		139 (85,8%)
<b>PAI-1 ativado</b> (ng/ml) $\pm$ DP	14,4 (5,4)	14 (7,4)	0,8	14,3 (5,5)
Polimorfismo <b>5G5G</b> - N(%)	13 (8,9%)	2 (11,8%)		15 (9,3%)
<b>PAI-1 ativado</b> (ng/ml) $\pm$ DP	13,7 (4,8)	15,5 (5,5)	0,6	13,9 (4,7)
<b>N</b>	145	17		162

**Tabela 3** - Associação do polimorfismo 4G5G do *PAI-1* com risco para doenças cardiovasculares (RDCV), hipertensão, diabetes mellitus, tabagismo, Colesterol não HDL (CNHDL) e razão triglicérideo/HDL em pessoas vivendo com HIV/AIDS.

Polimorfismo	CASOS	CONTROLES	OR(IC95%)	$\rho$
	RDCV alto	RDCV baixo		
5G5G – N (%)	2 (11,8)	13 (9)	1,0	0,7*
4G4G/4G5G – N (%)	15 (88,2)	132 (91)	0,7 (0,1 – 3,7)	
				0,6**
	HAS (+)	HAS (-)		
5G5G– N (%)	7 (11,3)	8 (8)	1,0	0,5*
4G4G/4G5G– N (%)	55 (88,7)	92 (92)	0,7 (0,2 – 2,0)	
				0,4**
	DM (+)	DM (-)		
5G5G– N (%)	0	15 (9,7)	1,0	0,4*
4G4G/4G5G– N (%)	8 (100)	139 (90,3)	-	
				-
	CT alto	CT normal		
5G5G– N (%)	9 (16,4)	6 (5,6)	1,0	0,02*
4G4G/4G5G– N (%)	46 (83,6)	101 (94,4)	0,3 (0,1 – 0,8)	
				0,02**
	HDL alterado	HDL normal		
5G5G– N (%)	11 (10,1)	4 (7,5)	1,0	0,6*
4G4G/4G5G– N (%)	98 (89,9)	49 (92,5)	0,6 (0,2 – 2,2)	
				0,5**
	CNHDL	CNHDL normal		
5G5G– N (%)	9 (16,1)	6 (5,7)	1,0	0,03*
4G4G/4G5G– N (%)	47 (83,9)	100 (94,3)	0,3 (0,1 – 0,8)	
				0,02**
	TG/HDL	TG/HDL normal		
5G5G– N (%)	5 (6,9)	10 (11,1)	1,0	0,4*
4G4G/4G5G– N (%)	67 (93,1)	80 (88,9)	1,7 (0,5 – 5,4)	
				0,4**

\* valor de  $\rho$  para o teste do qui-quadrado; \*\* valor de  $\rho$  para Odds Ratio (OR) ajustado para sexo, idade e tabagismo; IC95%: intervalo de confiança 95%. RDCV: risco de doença cardiovascular estimado pelo escore de *Framingham*; HAS: hipertensão arterial sistêmica; DM: diabetes mellitus; HDL: lipoproteína de alta densidade; CNHDL: Colesterol não HDL; TG: triglicérideo.

Os níveis de *PAI-1* ativado foram mais altos entre as pessoas com CT acima de 130 mg/dL e CT não HDL acima de 160 mg/dL (Tabela 3). Não houve diferença das médias do *PAI-1* ativado entre os demais fatores de risco analisados (Tabela 4).

**Tabela 4** - Associação de *PAI-1* ativado com risco para doenças cardiovasculares (RDCV), hipertensão, diabetes mellitus, tabagismo, Colesterol não HDL (CNHDL) e razão triglicédeos/C-HDL em pessoas vivendo com HIV/AIDS.

	CASOS	CONTROLES	$\rho$
	RDCV alto	RDCV baixo	
<b><i>PAI-1</i> ativado</b> Média em ng/mL (IC95%)	14,6 (10,9 – 18,2)	14,4 (13,5 – 15,3)	0,9
	HAS (+)	HAS (-)	
	14,1 (12,7 - 15,5)	14,6 (13,5 – 15,7)	0,6
	DM (+)	DM (-)	
	14,4 (11,3 – 17,6)	14,4 (13,5 – 15,3)	0,9
	CT alto	CT normal	
	15,6 (13,8 – 17,3)	13,8 (12,9 – 14,7)	0,06
	C-HDL alto	C-HDL normal	
	14,9 (13,7 – 16)	13,5 (12,2 – 14,8)	0,15
	CNHDL alto	CNHDL normal	
15,6 (13,9 – 17,4)	13,8 (12,9 – 14,7)	0,04	
TG/C-HDL alto	TG/C-HDL normal		
14,5 (13,2 – 15,8)	14,4 (13,2 - 15, 5)	0,9	

## DISCUSSÃO

Esse estudo teve como objetivo principal avaliar a associação do polimorfismo do gene *SERPINE1* e dos níveis plasmáticos de *PAI-1* com risco cardiovascular estimado e com fatores de risco tradicionais em pessoas infectadas com HIV. Não encontramos associações com risco para DCV estimado. Dentre os fatores de risco tradicionais para DCV, hipercolesterolemia foi associada a níveis mais elevados de *PAI-1* ativado, e com genótipo 5G5G do polimorfismo da região 675 do gene do *PAI-1*.

O uso de biomarcadores endoteliais protrombóticos para estimar de eventos cardiovasculares ainda é controverso em pessoas infectadas com HIV. Esse estudo não encontrou associação entre níveis plasmáticos do *PAI-1* ativado e risco cardiovascular

estimado pelo escore de Framingham. Da mesma forma, alguns autores não encontraram associação de níveis de *PAI-1* com doença aterosclerótica subclínica<sup>15</sup> ou eventos cardiovasculares maiores<sup>21</sup> em pessoas infectadas com HIV. Por outro lado, outros autores demonstraram que entre as pessoas vivendo com HIV/AIDS que tiveram o primeiro infarto do miocárdico (IAM), os níveis plasmáticos de *PAI-1* estavam elevados nos 12 meses anteriores ao desenvolvimento do desfecho, quando comparados com pessoas que não tiveram IAM<sup>22</sup>.

Também não houve associação do polimorfismo 4G5G do *PAI-1* com risco cardiovascular estimado pelo escore de Framingham. Em pessoas vivendo com HIV/AIDS, poucos estudos avaliaram o polimorfismo 4G5G do *PAI-1*<sup>23</sup> e nenhum avaliou a associação desse polimorfismo com DCV. Em pessoas sem HIV, ainda não está claro qual a participação do polimorfismo do *PAI-1* no surgimento de eventos cardiovasculares. A maioria dos estudos evidencia que o polimorfismo dessa região está associado com os níveis plasmáticos do *PAI-1*,<sup>24,25</sup> mas os resultados são mais conflitantes em relação a associação com eventos cardiovasculares. FOX, *et al*<sup>26</sup> não encontraram associação entre polimorfismo 4G5G do *PAI-1* e espessamento de média intimal de carótidas em 1778 pessoas participantes da coorte *Framingham offspring*. No Brasil, Lima *et al*<sup>15</sup> identificaram associação do polimorfismo 4G5G do *PAI-1* e doença aterosclerótica grave, com maior frequência do genótipo 4G4G em pessoas com aterosclerose grave de coronárias, identificada por angiografia. Em metanálise realizada em população chinesa não infectada pelo vírus HIV, foi encontrada associação do polimorfismo 4G5G com risco para DCV<sup>27</sup>. Em nosso estudo, a maioria dos participantes possuía pelo menos um alelo 4G. A baixa frequência de homozigose 5G5G foi inesperada, uma vez que a literatura descreve variações entre 20% e 50%, em populações de diferentes etnias.<sup>28</sup> Além disso, não houve diferença dos níveis plasmáticos de *PAI-1* entre os diferentes genótipos do polimorfismo. Essa pode ser parte da justificativa para os achados encontrados.

É importante ressaltar que esse estudo não avaliou evento cardiovascular maior ou doença aterosclerótica sub-clínica e sim o risco estimado para tais eventos em 10 anos de acordo com escore de *Framingham*. Guzman-Fulgencio *et al* também não encontraram associação de níveis de *PAI-1* com risco para DCV em 10 anos pelo escore de *Framingham*. Esses autores descreveram médias de *PAI-1* (13,5 ng/ml) em pessoas infectadas com HIV próximas aos valores que encontramos, mais baixos do que os descritos por Lima *et al*<sup>15</sup> em estudo que encontrou associação com evento cardiovascular como desfecho (>35 ng/mL em todos os grupos).

Dentre os fatores de risco tradicionais para doença cardiovascular avaliados nesse estudo, apenas a hipercolesterolemia esteve associada com níveis mais elevados de *PAI-1*. Um achado inesperado do nosso estudo foi que as pessoas sem o alelo 4G tiveram maior

chance de ter colesterol elevado, uma vez que esse alelo tem sido implicado em perfil metabólico desfavorável. Estudos deste tipo envolvendo pessoas vivendo com HIV/AIDS são raros. Em pessoas não infectadas pelo HIV, os estudos sobre associação entre polimorfismo 4G5G e RDCV mostram resultados conflitantes<sup>24</sup> e em pessoas com HIV ainda são escassos. Foi encontrada uma associação entre o polimorfismo 4G e hipercolesterolemia, mas não com hipertrigliceridemia. Já Kim *et al*<sup>29</sup> e colaboradores não encontraram associação entre o polimorfismo e dislipidemia. Esses mesmos autores evidenciaram chance maior de HAS em pessoas com o alelo 4G do polimorfismo, com OR de 1,6 para genótipo 4G5G e 1,7 para o genótipo 4G4G. Dados semelhantes foram descritos por um estudo espanhol em homens, onde foi encontrado OR de 1,89 para HAS nos portadores do alelo 4G. Nós não encontramos associação do polimorfismo com hipertensão. Recentemente, em uma metanálise sobre polimorfismos envolvidos na fibrinólise, foi descrito que outros polimorfismos próximos a região do 4G5G no cromossomo 7q22.1, além de polimorfismos em outros genes que não os do cromossomo 7 e suas variantes polimórficas, estão envolvidos na associação entre valores de *PAI-1* e fatores de risco cardiovasculares.<sup>14</sup>

Uma das limitações desse estudo foi ter avaliado o risco estimado de doença cardiovascular em pessoas infectadas com HIV através de uma equação que não leva em consideração fatores de risco especificamente relacionados ao HIV, principalmente uso de ARV e o status imunológico. Isso pode tornar o escore de Framingham inadequado para essa população. Entretanto, essa tem sido uma ferramenta amplamente utilizada em diferentes populações. Existem equações específicas para pessoas infectadas com HIV, mas que levam em consideração a utilização de drogas de pouco uso em nosso meio. Em estudo recente realizado na população brasileira, incluindo pessoas da “*AIDS-PE Cohort*”, não foi encontrada associação de fatores relacionados ao HIV com escore de risco cardiovascular estimado alto.<sup>30</sup> Além disso, já foi demonstrado que o risco para DCV estimado pelo escore de *Framingham* acima de 10% em 10 anos está associado com aterosclerose subclínica avaliada por espessamento de média intimal de carótidas em estudo realizado com pessoas da “*AIDS-PE Cohort*”, sugerindo que o escore de *Framingham* pode ser um bom preditor de DCV nessa população.<sup>31</sup>

Outra limitação que deve ser levada em consideração foi o pequeno número de pessoas com o genótipo 5G5G. Esse foi um achado inesperado e pode ter diminuído o poder do estudo em encontrar associações estudadas.

Em conclusão, não encontramos associação do polimorfismo 4G5G do *PAI-1* e níveis plasmáticos de *PAI-1* com risco cardiovascular estimado por escore de *Framingham* em pessoas infectadas com HIV. Entretanto, encontramos associação de hipercolesterolemia com níveis plasmáticos mais altos de *PAI-1* conforme o esperado. A alta frequência de

dislipidemia em pessoas com HIV encontrada neste e em outros estudos<sup>9,32,33</sup> e a bem documentada associação de hipercolesterolemia e doença cardiovascular em pessoas sem<sup>34</sup> e com HIV,<sup>35</sup> atenta para a utilização desse parâmetro como um importante marcador na predição de risco cardiovascular nessa população. Também encontramos associação da hipercolesterolemia com o genótipo 5G5G, diferentemente do que esperávamos.

A identificação de biomarcadores associados a risco aumentado de morbidade em populações específicas pode ser muito útil, mas até que possam ser empregados na prática clínica é preciso que os resultados de diversos estudos sejam convergentes. Baseado nesse estudo, o *PAI-1* e o polimorfismo 4G5G do *PAI-1* não são bons biomarcadores para identificar pessoas infectadas com alto risco cardiovascular. Estudos prospectivos e com maior tamanho de amostra são necessários para avaliação da real participação do *PAI-1* e os polimorfismos associados no aumento da incidência de doenças cardiovasculares em pessoas infectadas com HIV.

## Agradecimentos

Suporte Financeiro:

Ministério da Saúde do Brasil/ Programa DST/AIDS/UNESCO (CSV 185/07 – Projeto AS 4917/07).

Os autores foram parcialmente, financiados pelo Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) – Bolsa de estudo 308590/2013-9 para D.B.M.F., 310911/2009-5 para H.R.L.M., 301779/2009-0 para M.F.P.M., 300917/2006-6 para R.A.A.X.

Laboratório de Retrovirologia da UNIFESP-SP/Brasil e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical/ Departamento Medicina Tropical/ UFPE-PE/Brasil.

## REFERENCIAS

1. Candiani, TM, Pinto J, Cardoso CA, *et.al.* Impact of highly active antiretroviral therapy (HAART) on the incidence of opportunistic infection, hospitalizations and mortality among children and adolescents living with HIV/AIDS in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. *Cad Saude Publica* . 2007;23 Suppl 3:S414-23.
2. Piconi S, Parisotto S; Rizzadini S, *et.al.* Atherosclerosis is associated with multiple pathogenic mechanisms in HIV-infected antiretroviral-naive or treated individuals. *AIDS*. [s.l.] v.27, p.381-9, 2013.
3. Wada N, Jacobson LP, Cohen M, *et.al.* Cause-specific life expectancies after 35 years of age for human immunodeficiency syndrome-infected and human immunodeficiency

- syndrome-negative individuals followed simultaneously in long-term cohort studies, 1984-2008. *American Journal of Epidemiology*. [s.l.] v.177, p.116-25, 2013.
4. Ingle, SM; May, MT.; Gill, MJ.; *et.al.* Impact of risk factors for specific causes of death in the first and subsequent years of antiretroviral therapy among HIV-infected patients. *Clinical Infectious Diseases*. [s.l.] v.59, p.287-97, 2014.
  5. Wilson PW; D'Agostino RB; Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. [s.l.] v. 97, p.1837- 47, 1998.
  6. Moreira Guimarães MM, Bartolomeu Greco D; Ingles Garces AH Jr, Bastos Fóscolo R, de Campos Machado LJ. Coronary heart disease risk assessment in HIV-infected patients: a comparison of Framingham, PROCAM and SCORE risk assessment functions. *International Journal of Clinical Practice*. [s.l.], v.64, p.739-45, 2010.
  7. Barros ZM, de Alencar Ximenes RA, Miranda-Filho DB, de Albuquerque Mde F, Melo HR, Carvalho EH, Gelenske T, Diniz G, Bandeira F. Comparison between the Framingham and prospective cardiovascular of Münster scores for risk assessment of coronary heart disease in human immunodeficiency virus-positive patients in Pernambuco, Brazil. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. [s.l.], v.8, p.489-97, 2010.
  8. Gelenske T, e Farias FA, de Alencar Ximenes RA, de Melo HR, de Albuquerque Mde F, de Carvalho EH, de Medeiros Barros Z, Diniz GT, Filho DdeB. Risk factors in human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome patients undergoing antiretroviral therapy in the state of Pernambuco, Brazil: a case-control study. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. [s.l.], v. 8, p.271-7, 2010.
  9. De Carvalho EH, Miranda Filho Dde B, Ximenes RA, de Albuquerque Mde F, de melo HR, Gelenske T, Medeiros Zde B, Motarroyos U, Bandeira F. Prevalence of hyperapolipoprotein B and associations with other cardiovascular risk factors among human immunodeficiency virus-infected patients in Pernambuco, Brazil. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. [s.l.], v.8; p.403-10, 2010.
  10. Libby P, Ridker PM & Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*. [s.l.] v.473, p.317-25, 2011.
  11. Zorio E, Gilabert-Estellés J, Ramón LA, Cosín R, Estellés A. FIBRINOLISYS: the key to new pathogenetic mechanism. *Current Medicinal Chemistry*. [s.l.] v.15, p.923-9, 2008.
  12. Lopes C, Dina C, Durand E, Froquel P. *PAI-1* polymorphisms modulate phenotypes associates with the metabolic syndrome in obese and diabetic caucasian population. *Diabetologia*. [s.l.] Sep;46(9):1284-90, 2003.
  13. Henry M, Tregouët DA, Alessi MC, Ailleud MF, Visvikis S, Siest G, Juhan-Vague I. Metabolic determinants are much more important than genetic polymorphism in

- determining the *PAI-1* activity and antigen plasma concentrations. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. [s.l.] v.18, p.84-91, 1998.
14. Huang J, Sabater-Leal M, Asselbergs FW, Tregouet D, Shin SoYoun, Jingzhong D, Baumert J, Oudot-Mellakh T, Folkersen L, Johnson AD, Smith NL, Williams SM, Ikram MA, Kleber ME, Becker DM, *et al*. Genome-wide association study for circulation levels of *PAI-1* provides novel insights into its regulation. *Blood*. [s.l.] v.120, p.4873 – 81, 2012.
  15. Lima LM, Carvalho MG, Neto CPF, Garcia JCF, Sousa MO. Associação de níveis plasmáticos de *PAI-1* e polimorfismo 4G//5G em pessoas com doença arterial coronariana. *Arquivos Brasileiro de Cardiologia*. [s.l.] v.97, p.462-67, 2011.
  16. Guzman-Fulgencio F, Medrano J, Rallón N, Echeverria-Urabayen A, Miguel Benito J, Restrepo C, García-Álvarez M, Vispo E, San Roman J, Sánchez-Piedra C, Soriano V, Resino S. Soluble markers of inflammation are associated with Framingham scores in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy. *Journal of Infection*. [s.l.] v.63, p.382-90, 2011.
  17. Pirs M, Jug B, Erzen B, Sabovic M, Karner P, Poljak M, Tomazic J. Relationship between markers of endothelial dysfunction and inflammation and subclinical atherosclerosis in HIV-infected male patients below 55 years of age. *Acta Dermatoverologica*. [s.l.] v.23, p.49-52, 2014.
  18. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge *Clin Chem*, 1972, 18: 499-504.
  19. Bonyadi M, Shaghghi Z, Haghi M, Dastgiri S. Plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphism in Iranian Azeri Turkish patients with FMF disease and its association with amyloidosis. *Eur J Pediatr*. 2013 Jan;172(1):91-8. doi: 10.1007/s00431-012-1844-z. Epub 2012 Oct 5. PMID: 23052617 [PubMed - indexed for MEDLINE]
  20. Martínez-Calatrava MJ, Martínez-Larrad MT, Zabena C, González-Sánchez JL, Fernández-Pérez C, Serrano-Ríos M. The 4G/4G *PAI-1* genotype is associated with elevated plasma *PAI-1* levels regardless of variables of the metabolic syndrome and smoking status. A population-based study in Spanish population. *Diabetes Obes Metab*. [s.l.] Jan;9(1):134-5, 2007
  21. De Luca A, de Gaetano DK, Colafigli M, Cozzi-Lepri A, De Curtis A, Gori A, Sighinolfi L, Giacometti A, Capobianchi MR, D'Avino A, Lacoviello L, Cuda R, D'Arminio Monforte A. The association of high-sensitivity c-reactive protein and other biomarkers with cardiovascular disease in patients treated for HIV: a nested case-control study. *BMC Infectious Disease*. [s.l.] v.13, p.414- 2013.

22. Knudsen A, Katzenstein TL, Bendjeld T, Jørgensen NR, Kronborg G, Gerstoft J, Obel N, Kjær A, Lebech AM. Plasma plasminogen activator inhibitor-1 predicts myocardial infarction in HIV-1-infected individuals. *AIDS*. [s.l.] v.28, p.1171-9, 2014.
23. Perés Wingeyer SD, Cunto Er, Nogueras CM, San Juan JA, Gomez N, de Larrañaga GF. Biomarkers in sepsis at time zero: intensive care unit scores, plasma measurements and polymorphisms in Argentina. *The Journal of Infection in Developing Countries*. [s.l.] v.23, p.555-62, 2012.
24. Boncoraglio, GB, Bodini, A, Brambilla C, Carriero MR, Ciusani E, Parati EA. An effect of the *PAI-1* 4G/5G polymorphism on cholesterol levels may explain conflicting associations with myocardial infarction and stroke.
25. Nikolopoulos GK, Bagos PG, Tsangaris CG, Tsiara CG, Kopterides P, Vaiopoulos A, Kapsimali V, Bonovas S, Tsantes AE. The association between plasminogen activator inhibitor type 1(*PAI-1*) levels, *PAI-1* 4G/5G polymorphism, and myocardial infarction: a Mendelian randomization meta-analysis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. [s.l.] v.52, p.937-50, 2014.
26. Fox CS, Larson MG, Corey D, Feng D, Lindpaintner K, Polak JF, Wolf PA, D'Agostino RB, Tofler GH, O'Donnell CJ. Absence of association between polymorphisms in the hemostatic factor pathway genes and carotid intimal medial thickness: the Framingham Heart Study. *Stroke*. [s.l.] v.35, p. e65-e67, 2004.
27. Li, YY. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism and coronary artery disease in the Chinese Han population: a meta-analysis. *PLoS One*. [s.l.] v.7, p. e33511, 2012.
28. Festa, A, D'Agostino RJr, Rich SS, Jennu NS, Tracy RP, Haffner SM. Promoter (4G/5G) plasminogen activator inhibitor-1 genotype and plasminogen activator Inhibitor-1 levels in black, hispanics and non-hispanics whites.*Circulation*. [s.l.] v.107, p.2422-2427, 2003.
29. Kim KN, Kim, KM, Kim BT, Joo NS, Cho DY, Lee DJ. Relationship of plasminogen activator inhibitor 1gene 4G/5G polymorphism to hypertension in Korean women. *Chinese Medical Journal*. [s.l.] v.125, p.1249-53, 2012.
30. Fuchs SC, Alencastro PR, Ikeda, ML, Barcellos NT, Wolff FH, Brandão AB, Ximenes RA, Miranda-Filho Dde B, Lacerda HR, de Albuquerque Mde F, Montarroyos UR, Nery MW, Tuchi MD. Risk of Coronary Heart Disease among HIV-Infected Patients: A Multicenter Study in Brazil. *The Scientific World Journal*. [s.l.], v.2013, Article ID 163418, 2013. Accessed in <<http://www.hindawi.com/search/id/163418/or/page/163418>
31. Falcão Mda C, Zirpoli JC; Albuquerque VM, Markman Filho B, Araújo NA, Falcão CA, Miranda-Filho Dde B, Ximenes RA, Albuquerque Mde F, Lacerda HR. Association of

- biomarkers with atherosclerosis and risk for coronary artery disease in patients with HIV. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. [s.l.] v. 99, p. 971-8, 2012.
32. Estrada V, Bernardino JI, Masiá M, Iribarren JA, Ortega A, Lozano F, Miralles C, Olalla J, Santos J, Elías MJ, Domingo P, Cruz AF. Cardiovascular risk factors and lifetime risk estimation in HIV-infected patients under antiretroviral treatment in Spain. *HIV Clinical Trials*. [s.l.] v.22, p.1528433614Z0000000008, 2015.
  33. Souza, SJ, Luzia LA, Santos SS, Rondó PH. Lipid profile of HIV-infected patients in relation to antiretroviral therapy: a review. *Revista da Associação Médica Brasileira*. [s.l.] v.59, p. 186-98, 2013.
  34. Lubrano V & Balzan S. Consolidated and emerging inflammatory markers in coronary artery disease. *World Journal of Experimental Medicine*. [s.l.] v.5, p.21-32, 2015.
  35. Lo J. Dyslipidemia and lipid management in HIV-infected patients. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. [s.l.] v. 18, p.144-7, 2011.

## 9 CONCLUSÕES

A análise dos dados do presente estudo nos permite concluir que:

- A frequência do polimorfismo na população estudada é predominantemente heterozigótica (86,8%).
- Os níveis de *PAI-1* no plasma são relativamente baixos ( $14,4 \pm 5,5$  ng/mL) quando comparados àqueles obtidos na maioria dos estudos em pessoas não infectadas com HIV e em pessoas vivendo com o HIV.
- Na amostra analisada não há associação entre polimorfismo 4G5G com níveis de plasminogênio, embora exista uma discreta diferença entre níveis encontrados nas pessoas 5G5G e nas pessoas com genótipos 4G5G e 4G4G - com alelo 4G, mas sem significância estatística.
- Não há diferença de níveis de *PAI-1* plasmáticos entre genótipos contendo um alelo 4G e dois alelos, o que sugere que a alteração SNP em um ou dois locus não esteja implicada na elevação do *PAI-1* plasmático.
- Não foi encontrada associação do polimorfismo 4G5G, nem dos níveis de *PAI-1* com SM, quando ajustada pelo sexo, idade, IMC, tempo de TARV, tempo de HIV e pelo tabagismo.
- Não foi encontrada associação entre polimorfismo 4G5G com variáveis definidoras de SM e com variáveis CT, LDL, dislipidemia, CD4 e CV.
- Nesse estudo, não foi observada associação do polimorfismo 4G5G do *PAI-1* nem dos níveis plasmáticos de *PAI-1* com RCV>10% pelo escore de Framingham, mas houve associação de RDCV alto com hipercolesterolemia.

## 10 CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES

Após avaliação dos resultados deste estudo podemos sugerir os seguintes:

- Recomendamos que este estudo deva ser expandido com N maior e com inclusão de outras variáveis como marcadores de inflamação, elementos da cadeia de coagulação e variáveis de hábito de vida, além de outros polimorfismos.
- Recomendamos a execução de estudo prospectivo que possam avaliar a associação entre polimorfismo 4G5G e os níveis de *PAI-1* plasmático e o desenvolvimento de síndrome metabólica e, ou eventos cardiovasculares.
- Recomendamos que seja verificada associação do *PAI-1* plasmático em comparação com colesterol não HDL, por níveis de corte baixo, normal, moderado e alto, ajustado por sexo e outras variáveis neste estudo não analisadas como hábito de vida uso de drogas viciantes, prática de exercício e por tipo de ARV.
- Sugerimos que outros instrumentos de avaliação de risco sejam empregados para comparação com achados obtidos quando empregamos o Escore de Framingham para Risco Cardiovascular em 10 anos.
- Sugerimos testar influencia da TARV na expressão fenotípica do gen promotor do *PAI-1*, variante rs1799762 por estudo prospectivo.
- Sugere-se realização de estudo caso-controle com pareamento de pessoas por genótipos, IMC, tabagismo, níveis séricos médios de GJ, TG, CT e C-HDL para comparação de medianas de *PAI-1* plasmático e verificação de diferenças na expressão.

## REFERÊNCIAS

ABRAHAM, NG, BRUNNER, EJ, ERIKSSON, JW and ROBERTSON, RP. Metabolic Syndrome - Psychosocial, Neuroendocrine, and Classical Risk Factors in Type 2 Diabetes. **Annals of the New York Academy of Sciences** Volume 1113, Issue 1, Article first published online: 5 NOV 2007.

ADDY CL, *et.al.* Hypoadiponectinemia Is Associated with Insulin Resistance, Hypertriglyceridemia, and Fat Redistribution in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients Treated with Highly Active Antiretroviral Therapy. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 2003; 88(2):627-636.

AERTGEERTS K, De Bondt HL, De Ranter CJ, Declerck PJ. Mechanisms contributing to the conformational and functional flexibility of plasminogen activator inhibitor-1. **Nat Struct Biol**. 1995 Oct;2(10):891-7.

ALBERTI, K.G.; *et.al.* The metabolic syndrome: a new worldwide definition. **The Lancet**, [s.l.], v.366, p.1059-62, 2005.

ALBERTI KG, *et.al.* Harmonizing the Metabolic Syndrome: **A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention**; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society and International Association for the Study of Obesity. **Circulation** 2009; 120:1640-1645.

ALESSI MC, JUHAN-VAGUE I. Metabolic syndrome, haemostasis and thrombosis. **Thromb Haemost**. [s.l.] Jun; 99(6): 995-1000, 2008.

ALVAREZ C, *et.al.* Metabolic syndrome in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy in Latin America. **Braz J Infect Dis** 2010; 14:256-263.

ANAND SS, *et.al.* Relationship of Metabolic Syndrome and Fibrinolytic Dysfunction to Cardiovascular Disease. **Circulation** 2003;108;420-425. DOI: 10.1161/01.CIR.0000080884.27358.49.

BARROS, Z.M, *et.al.* Comparison between the Framingham and prospective cardiovascular of Münster scores for risk assessment of coronary heart disease in

human immunodeficiency virus-positive patients in Pernambuco, **Brazil. Metabolic Syndrome and Related Disorders.** [s.l.], v.8, p.489-97, 2010.

BATTES LC, Akkerhuis KM, Cheng JM, Garcia-Garcia HM, Oemrawsingh RM, de Boer SP, Regar E, van Geuns RJ, Serruys PW, Boersma E, Kardys I. Circulating acute phase proteins in relation to extent and composition of coronary atherosclerosis and cardiovascular outcome: results from the ATHEROREMO-IVUS study. **Int J Cardiol.** 2014 Dec 20;177(3):847-53. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.11.001. Epub 2014 Nov 4.

BOEKHOLDT SM, *et.al.* Genetic variation in coagulation and fibrinolytic proteins and their relation with acute myocardial infarction: a systematic review. **Circulation.** 2001;104:3063–3068.

BONCORAGLIO, G.B, *et.al.* Na effect of the *PAI-1* 4G/5G polymorphism on cholesterol levels may explain conflicting associations with myocardial infarction and stroke. **Cerebrovascular Diseases** (Impact Factor: 3.7). 02/2006; 22(2-3):191-5.

BONYADI M, *et.al.* Plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphism in Iranian Azeri Turkish patients with FMF disease and its association with amyloidosis. **Eur J Pediatr.** 2013 Jan;172(1):91-8. doi: 10.1007/s00431-012-1844-z. Epub 2012 Oct 5. PMID: 23052617 [PubMed - indexed for MEDLINE]

CANDIANI, TMS, *et.al.* Impact of highly active antiretroviral therapy (HAART) on the incidence of opportunistic infection, hospitalizations and mortality among children and adolescents living with HIV/AIDS in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. **Cad Saude Publica** . 2007;23 Suppl 3:S414-23.

COLLET JP, *et.al.* Acute release of plasminogen activator inhibitor-1 in ST-segment elevation myocardial infarction predicts mortality. **Circulation.** 2003; 108: 391–394.

DE CARVALHO, EH, *et.al.* Prevalence of hyperapoprotein B and associations with other cardiovascular risk factors among human immunodeficiency virus-infected patients in Pernambuco, Brazil. **Metabolic Syndrome and Related Disorders.** [s.l.], v.8; p.403-10, 2010.

DE LANGE Z, *et.al.* In black South Africans from rural and urban communities, the 4G/5G *PAI-1* polymorphism influences *PAI-1* activity, but not plasma clot lysis time. **PLoS One.** 2013 Dec 30;8(12):e83151. doi: 10.1371/journal.pone.0083151. **eCollection** 2013. PMID:24386152 [PubMed - indexed for **MEDLINE**]

DE LARRAÑAGA G, *et.al.* Insulin resistance status is an important determinant of *PAI-1* levels in HIV-infected patients, independently of the lipid profile. **J Thromb Haemost.** 2004 Mar;2(3):532-4.

DE LUCA, A, *et.al.* The association of high-sensitivity c-reactive protein and other biomarkers with cardiovascular disease in patients treated for HIV: a nested case-control study. **BMC Infectious Disease.** [s.l.] v.13, p.414- 2013.

DIAMANTI-KANDARAKIS E, *et.al.* The prevalence of 4G5G polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1 (*PAI-1*) gene in polycystic ovarian syndrome and its association with plasma *PAI-1* levels. **Eur J Endocrinol.** 2004 Jun;150(6):793-8. PMID: 15191349.

DING Z, PAN JQ. Distribution of *PAI-1* promoter 4G/5G polymorphism in healthy Chinese and functional characterization using a luciferase reporter vector. **Ann Hematol.** 2005 Mar;84(3):183-7. Epub 2004 Aug 12.

DONG, J; Fuji, S; Li, H; Nakabayashi, H; Sakai, M; Nishi, S; Goto, D; Furumoto, T; Imagawa, S; Zaman, TAK; Kitabatake, A. Interleukin-6 and Mevastatin Regulate Plasminogen Activator Inhibitor-1 Through CCAAT/Enhancer-Binding Protein- $\delta$ . **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.** 2005; 25: 1078-1084. Published online before print February 17, 2005, DOI: 10.1161/01.ATV.0000159701.24372.49

DUONG M, *et.al.* Coronary heart disease associated with the use of human immunodeficiency virus (HIV)-1 protease inhibitors: report of four cases and review. **Clin Cardiol** 24:690–694, 2001.

DYSON FJ. **Infinite in all directions.** 1<sup>st</sup>. Perennial Harper Collins, Publishers, Inc. Scotland. 2004. ISBN 0-06-072889-2 Q175.3.D97.2004.

ERIKSSON P, Kallin B, van 't Hooft FM, Båvenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.** 1995;92(6):1851-1855.

ESTRADA, V, *et.al.* Cardiovascular risk factors and lifetime risk estimation in HIV-infected patients under antiretroviral treatment in Spain. **HIV Clinical Trials.** [s.l.] v.22, p.1528433614Z00000000008, 2015.

EVOLUTION. Understanding Evolution - your one-stop source for information on evolution. **The causes of mutations.** Disponível em: [http://evolution.berkeley.edu/evolibrary/article/evo\\_20](http://evolution.berkeley.edu/evolibrary/article/evo_20) Acesso em: 03 Maio 2015.

FALCÃO MCBA, *et.al.* Associação de Biomarcadores com Aterosclerose e Risco para Doença Coronariana em Portadores de HIV. **Arq Bras Cardiol** 2012;99(5):971-978.

FESTA, A, *et.al.* Promoter (4G/5G) plasminogen activator inhibitor-1 genotype and plasminogen activator Inhibitor-1 levels in black, hispanics and non-hispanics whites. **Circulation**. [s.l.] v.107, p.2422-2427, 2003.

FOX, C.S, *et.al.* Absence of association between polymorphisms in the hemostatic factor pathway genes and carotid intimal medial thickness: the Framingham Heart Study. **Stroke**. [s.l.] v.35, p. e65-e67, 2004.

FRIEDEWALD, WT, LEVY R, FREDRICKSON DS. Estimation of the concentration of low lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge **Clin Chem**, 1972, 18: 499-504.

FUCHS, S.C, *et.al.* Risk of Coronary Heart Disease among HIV-Infected Patients: A Multicenter Study in Brazil. **The Scientific World Journal**. [s.l.], v.2013, Article ID 163418, 2013. Accessed in <<http://www.hindawi.com/search/id/163418/or/page/163418/>>

GAZZARUSO C, *et.al.* Prevalence of metabolic syndrome among HIV patients. **Diabetes Care**, 25:1253-1254, 2002.

GELENSKE, T, *et.al.* Risk factors in human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome patients undergoing antiretroviral therapy in the state of Pernambuco, Brazil: a case-control study. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**. [s.l.], v. 8, p.271-7, 2010.

GENETIC SCIENCE LEARNING CENTER, "**What Is Mutation?**" Learn.Genetics, 22 June 2014, Disponível em: <http://learn.genetics.utah.edu/content/variation/mutation/> Acesso em: 04 Maio 2015

GNACIŃSKA M, Małgorzewicz S, Guzek M, Lysiak-Szydłowska W, Sworczak K. Adipose tissue activity in relation to overweight or obesity. **Endokrynol Pol**. 2010 Mar-Apr;61(2):160-8.

GRUNDY SM, *et.al.* The American Heart Association, the National Heart, Lung, and Blood Institute: Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/ American Heart Association conference on scientific issues related to definition. **Circulation** [s.l.] 109:433–438, 2004.

GRUNDY, S.M. *et.al.* Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement . **Circulation**, [s.l.], v.112, p.2735-2752, 2005.

GUZMAN-FULGENCIO, F, *et.al.* Soluble markers of inflammation are associated with Framingham scores in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy. **Journal of Infection**. [s.l.] v.63, p.382-90, 2011.

HADIGAN C, *et.al.* Framingham Heart Study. Increased *PAI-1* and tPA antigen levels are reduced with metformin therapy in HIV-infected patients with fat redistribution and insulin resistance. **J Clin Endocrinol Metab**. [s.l.] Feb; 86(2): 939-43, 2001.

HAMSTEN A, *et.al.* Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk for recurrent myocardial infarction. **Lancet** [s.l.] (2): 3-9, 1987.

HE G, *et.al.* Plasminogen activator inhibitor type 1 (*PAI-1*) in plasma and adipose tissue in HIV-associated lipodystrophy syndrome. Implications of adipokines. **Eur J Clin Invest**. [s.l.] Sep;35(9):583-90, 2005.

HENRY, M, *et.al.* Metabolic determinants are much more important than genetic polymorphism in determining the *PAI-1* activity and antigen plasma concentrations. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**. [s.l.] v.18, p.84-91, 1998.

HERNANDEZ LM & BLAZER DG. Institute of Medicine (US) Committee on Assessing Interactions Among Social, Behavioral, and Genetic Factors in Health; Genes, Behavior, and the Social Environment: Moving Beyond the Nature/Nurture Debate. Washington (DC): **National Academies Press** (US); 2006. 3, Genetics and Health. Disponível em:: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK19932/> Acesso em: 04 Maio 2015.

HOOSHYAR D, HANSON DL, WOLFE M. Trends in perimortal conditions and mortality rates among HIV-infected patients. **AIDS**. 2007 Oct 1;21(15):2093-100.

HORI Y, *et.al.* Insulin resistance is associated with increased circulating level of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor in type 2 diabetic patients. **J Clin Endocrinol Metab** 87:660–665, 2002.

HUANG X, Li Y, Huang Z, Wang C, Xu Z. *PAI-1* gene variants and COC use are associated with stroke risk: a case-control study in the Han Chinese women. *J Mol Neurosci*. 2014 Dec;54(4):803-10. doi: 10.1007/s12031-014-0418-0. Epub 2014 Sep 18.

HUANG, J, *et.al.* Genome-wide association study for circulation levels of *PAI-1* provides novel insights into its regulation. **Blood**. [s.l.] v.120, p.4873 – 81, 2012.

INGLE, S.M, *et.al.* Impact of risk factors for specific causes of death in the first and subsequent years of antiretroviral therapy among HIV-infected patients. **Clinical Infectious Diseases**. [s.l.] v.59, p.287-97, 2014.

JERICÓ C, *et.al.* Metabolic syndrome among HIV-infected patients. **Diabetes Care**, [s.l.] v.28, p.144-149, 2005.

JIN L & CHAKRABORTY R. Estimation of Genetic Distance and Coefficient of Gene Diversity from Single-Probe Multilocus DNA Fingerprinting Data. **Mol Biol Evol** 11(1): 120-127. 1994.

JUHAN-VAGUE I, *et.al.* Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris: ECAT Study Group: European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. **Circulation**. 1996;94:2057–2063.

JUHAN-VAGUE I, THOMPSON SG, JESPERSEN J. Involvement of the hemostatic system in the insulin resistance syndrome. A study of 1500 patients with angina pectoris. The ECAT Angina Pectoris Study Group. **Arterioscler Thromb** 1993; 13: 1865–1873.

KAHN R, Ferrannini E, Buse J, Stern M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal. *Diabetes care*. 2005; 28: 2289-304.

KATHIRESAN S, *et.al.* Comprehensive Survey of Common Genetic Variation at the Plasminogen Activator Inhibitor-1 Locus and Relations to Circulating Plasminogen Activator Inhibitor-1 Levels. **Circulation** [s.l.] 112;1728-1735, 2005.

KIM, K.N, *et.al.* Relationship of plasminogen activator inhibitor 1 gene 4G/5G polymorphism to hypertension in Korean women. **Chinese Medical Journal**. [s.l.] v.125, p.1249-53, 2012.

KIN JH, Reaven GM. The metabolic syndrome: one step forward, two steps back. *Vasc Dis Res*. 2004; 1: 68-76.

KISHORE P, Li W, Tonelli J, Lee DE, Koppaka S, Zhang K, Lin Y, Kehlenbrink S, Scherer PE, Hawkins M. Adipocyte-derived factors potentiate nutrient-induced production of plasminogen activator inhibitor-1 by macrophages. *Sci Transl Med*. 2010 Feb 24;2(20):20ra15. doi: 10.1126/scitranslmed.3000292.

KNUDSEN, A, *et.al.* Plasma plasminogen activator inhibitor-1 predicts myocardial infarction in HIV-1-infected individuals. **AIDS**. [s.l.] v.28, p.1171-9, 2014.

KOCH W, *et.al.* 4G/5G polymorphism and haplotypes of *SERPINE1* in atherosclerotic diseases of coronary arteries. **Thromb Haemost**. 2010;103(6):1170-80.

KOPPEL K, *et.al.* Hypofibrinolytic state in HIV-1-infected patients treated with protease inhibitor-containing highly active antiretroviral therapy. **J Acquir Immune Defic Syndr** 2002, 15:441-449.

KRISTOFFERSEN US, *et.al.* Reduction in circulating markers of endothelial dysfunction in HIV-infected patients during antiretroviral therapy. **HIV Med** [s.l.] Feb; 10(2):79-87, 2009.

LEWDEN C, MAY T, ROSENTHAL E; ANRS EN19 Mortalité Study Group and Mortavic1. Changes in causes of death among adults infected by HIV between 2000 and 2005: The "Mortalité 2000 and 2005" surveys (ANRS EN19 and Mortavic). **J Acquir Immune Defic Syndr**. 2008 Aug 15;48(5):590-8.

LI, Y.Y. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism and coronary artery disease in the Chinese Han population: a meta-analysis. **PLoS One**. [s.l.] v.7, p. e33511, 2012.

LIBBY, P.; RIDKER, P.M.; HANSSON, G.K. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. **Nature**. [s.l.] v.473, p.317-25, 2011.

LIMA LM. **Parâmetros bioquímicos, hemostáticos e moleculares em indivíduos submetidos à angiografia coronariana.** 2008. 171 f.: II. TESE DE DOUTORAMENTO – UFMG, Belo Horizonte – MG.

LIMA, L.M, *et.al.* Associação de níveis plasmáticos de *PAI-1* e polimorfismo 4G//5G em pessoas com doença arterial coronariana. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia.** [s.l.] v.97, p.462-67, 2011.

LO, J. Dyslipidemia and lipid management in HIV-infected patients. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity.** [s.l.] v. 18, p.144-7, 2011.

LOPES C, *et.al.* *PAI-1* polymorphisms modulate phenotypes associated with the metabolic syndrome in obese and diabetic Caucasian population. **Diabetologia.** [s.l.] Sep;46(9):1284-90, 2003.

LUBRANO, V. & BALZAN, S. Consolidated and emerging inflammatory markers in coronary artery disease. **World Journal of Experimental Medicine.** [s.l.] v.5, p.21-32, 2015.

LUNA, Rafael Leite. Síndrome metabólica. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo , v. 88, n. 5, p. e124-e126, May 2007 . Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2007000500027&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2007000500027&lng=en&nrm=iso) Acesso em: 03 de Maio de 2015. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0066-782X2007000500027> .

MARTINEZ E, Larrousse M, Podzamczer D, Pérez I, Gutiérrez F, Loncá M, Barragán P, Deulofeu R, Casamitjana R, Mallolas J, Pich J, Gatell JM, **BICOMBO Study Team:** Abacavir-based therapy does not affect biological mechanisms associated with cardiovascular dysfunction. *AIDS* 2010, 24: F1-F9.

MARTÍNEZ-CALATRAVA MJ, *et.al.* The 4G/4G *PAI-1* genotype is associated with elevated plasma *PAI-1* levels regardless of variables of the metabolic syndrome and smoking status. A population-based study in Spanish population. **Diabetes Obes Metab.** [s.l.] Jan;9(1):134-5, 2007.

MARVRI A, *et.al.* Polymorphism A36G of the tumor necrosis factor receptor 1 gene is associated with *PAI-1* levels in obese women. **Thromb Haemost.** [s.l.] Jan;97(1):62-6, 2007.

MASIÁ M, *et.al.* Increased carotid intima-media thickness associated with antibody responses to varicella-zoster virus and cytomegalovirus in HIV-infected patients. **PLoS One**. 2013 May 23;8(5):e64327. doi: 10.1371/journal.pone.0064327. Print 2013. PMID: 23717597 [PubMed - indexed for **MEDLINE**].

MORANGE PE, *et.al.* Association of plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 (*SERPINE1*) SNPs with myocardial infarction, plasma *PAI-1*, and metabolic parameters: the HIFMECH study. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2007 Oct;27(10):2250-7.

MOREIRA GUIMARÃES, M.M, *et.al.* Coronary heart disease risk assessment in HIV-infected patients: a comparison of Framingham, PROCAM and SCORE risk assessment functions. **International Journal of Clinical Practice**. [s.l.], v.64, p.739-45, 2010.

MOSTAFA BH, *et.al.* Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism in hemodialysis patients with cardiovascular disease. **Egyptian Journal of Haematology** 2013, Vol 38 No 1: 1110-1067.

NARAH NH, CHETTY N, CROWTHER NJ. The influence of metabolic syndrome components on plasma *PAI-1* concentrations is modified by the *PAI-1* 4G/5G genotype and ethnicity. **Atherosclerosis**. [s.l.] Jan;196(1):155-63. Epub 2007 Apr 30, 2008.

NATIONAL Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. **Circulation**, [s.l.], v.106, p.3143-3421, 2002.

NATURE. Scitable by nature education – Glossary –**Mutation & SNP**. Disponível em: <http://www.nature.com/scitable/definition/single-nucleotide-polymorphism-snp-295> Acesso em: 03 de Maio de 2015.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 70:3321-3323. . 1978.

NIKOLOPOULOS, *et.al.* The association between plasminogen activator inhibitor type 1 (*PAI-1*) levels, *PAI-1* 4G/5G polymorphism, and myocardial infarction: a Mendelian randomization meta-analysis. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**. [s.l.] v.52, p.937-50, 2014.

NORDT TK, *et.al.* Regulation of *PAI-1* expression by genetic polymorphism. Impact on atherogenesis. **Thromb Res.** 2001;103 Suppl 1:S1-5.

OSEI, K. Obesity Update – Ethnic considerations of metabolic syndrome and body composition. **Endocrine Today**, October, 2009. Disponível em: <http://www.healio.com/endocrinology/diabetes/news/print/endocrine-today/%7B37ffa486-059b-4dcf-93cb-c7bf8187f5ad%7D/ethnic-considerations-of-metabolic-syndrome-and-body-composition> Acesso em: 20 de maio de 2015.

OZEL DD, *et.al.* The effect of plasminogen activator inhibitor-1 -675 4G/5G polymorphism on *PAI-1* gene expression and adipocyte differentiation. **Clin Appl Thromb Hemost.** [s.l.] Oct;14(4):438-46. Epub 2007 Dec 26, 2008.

PADILLA S, *et.al.* Early changes in Inflammatory and pro-thrombotic biomarkers in patients initiating antiretroviral therapy with Abacavir or Tenofovir. **BMC Infectious Diseases** 2011, 11:40 Doi:10.1186/1471-2334-11-40.

PALELLA FJ Jr, *et.al.* Inflammatory biomarkers and abacavir use in the Women's Interagency HIV Study and the Multicenter AIDS Cohort Study. **AIDS** 2010, 24:1657-1665.

PANAHLOO A, Mohamed-Ali V, Lane A, Green F, Humphries SE, Yudkin JS. Determinants of plasminogen activator inhibitor 1 activity in treated NIDDM and its relation to a polymorphism in the plasminogen activator inhibitor 1 gene. **Diabetes.** 1995 Jan;44(1):37-42.

PENALVA, DQF. Síndrome Metabólica: diagnóstico e tratamento. Rev Med (São Paulo). 2008 out.-dez.; 87(4): 245-50.

PERÉS WS, *et al.* Role of 4G/5G promoter polymorphism of Plasminogen Activator Inhibitor-1 (*PAI-1*) gene in outcome of sepsis. **Thromb Res** (2009), doi:10.1016/j.thromres.2009.04.006.

PICONI, S, *et.al.* Atherosclerosis is associated with multiple pathogenic mechanisms in HIV-infected antiretroviral-naive or treated individuals. **AIDS.** [s.l.] v.27, p.381-9, 2013.

PIETERS M, *et.al.* Triglyceride concentration and waist circumference influence alcohol-related plasminogen activator inhibitor-1 activity increase in black South

Africans. **Blood Coagul Fibrinolysis**. 2010 Dec;21(8):736-43. doi: 10.1097/MBC.0b013e32834014e2. PMID: 20881480.

PIMENTA E, Passarelli O Jr, Borelli FAO, Souza M, Amodeo C, Piegas LS. A falta de padronização nos critérios diagnósticos da síndrome metabólica modifica a sua prevalência? *Arq Bras Cardiol*. 2006; 87 (supl I): 166.

PIRS, M, *et.al*. Relationship between markers of endothelial dysfunction and inflammation and subclinical atherosclerosis in HIV-infected male patients below 55 years of age. **Acta Dermatoverologica**. [s.l.] v.23, p.49-52, 2014.

RALLIDIS LS, *et.al*. Reduced carriership of 4G allele of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism in very young survivors of myocardial infarction. **J Thromb Thrombolysis**. 2010;29(4):497-502.

ROMAGNUOLO R, *et.al*. Inhibition of plasminogen activation by apo(a): role of carboxyl-terminal lysines and identification of inhibitory domains in apo(a). **J Lipid Res**. 2014 Apr; 55(4):625-34. Doi: 10.1194/jlr.M036566.

SAKHTEH M, *et.al*. Polymorphism and synergism of angiotensin-converting enzyme (ACE) and plasminogen activator inhibitor-1 (*PAI-1*) genes in coronary artery disease. **J Renin Angiotensin Aldosterone Syst**. 2014 Dec 12. pii: 1470320314561247. [Epub ahead of print] PMID: 25501306.

SAKKINEN PA, *et.al*. Clustering of procoagulation, inflammation, and fibrinolysis variables with metabolic factors in insulin resistance syndrome. **Am J Epidemiol** 2000; 152: 897-907.

SHAW, J.A. Guidelines and their use in clinical practice. **Diabetes & Vascular Disease Research** 2014, Vol II(I): 3-4. Disponível em [dvr.sagepub.com](http://dvr.sagepub.com) em 03 de março de 2015.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS (SBDST). IAS 2015: **Guidelines 2015 - Novo protocolo da OMS determina que todas as pessoas vivendo com HIV sejam tratadas assim que diagnosticadas**. Disponível em: [http://dstbrasil.org.br/site/content/noticias/detalhe.php?noticia\\_id=116](http://dstbrasil.org.br/site/content/noticias/detalhe.php?noticia_id=116) Acesso em: 12 de Maio de 2015.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA (SBEM). **Síndrome Metabólica**. Disponível em: <http://www.endocrino.org.br/sindrome-metabolica/> Acesso em: 18 de Maio de 2015.

SOUZA, S.J, *et.al.* Lipid profile of HIV-infected patients in relation to antiretroviral therapy: a review. **Revista da Associação Médica Brasileira**. [s.l.] v.59, p. 186-98, 2013.

SPORER B, *et.al.* Evaluation of cerebrospinal fluid uPA, PAI-1, and soluble uPAR levels in HIV-infected patients. **J Neuroimmunol**. [s.l.] Jun; 163 (1-2): 190-4, 2005.

STONE, N.J, *et.al.* 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. **Circulation**. [s.l.] v. 129, sup. 2, p.S1-S45, 2014.

SUGANO T, *et.al.* Plasminogen activator inhibitor-1 promoter 4G/5G genotype is not a risk factor for myocardial infarction in a Japanese population. **Blood Coagul Fibrinolysis**. 1998 Mar;9(2):201-4.

TOFLER GH, *et.al.* Plasminogen Activator Inhibitor (PAI-1) and Risk of Cardiovascular Disease: The Framingham Heart Study. **Circulation**. 2009;120:S454.

TROIAN, MC, *et.al.* Prevalência de síndrome metabólica e dislipidemia em pessoas HIV-positivos em uso de terapia anti-retroviral. **Jornal brasileiro de medicina**. 2005; 89(3):31-34.

UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2013.

VAN-VONDEREN MG, *et.al.* Increase in carotid artery-media thickness and arterial stiffness but improvement in several markers of endothelial function after initiation of antiretroviral therapy. **J Infect Dis**, [s.l.] Apr 15; 199(8): 1186-94, 2009.

WADA, N, *et.al.* Cause-specific life expectancies after 35 years of age for human immunodeficiency syndrome-infected and human immunodeficiency syndrome-negative individuals followed simultaneously in long-term cohort studies, 1984-2008. **American Journal of Epidemiology**. [s.l.] v.177, p.116-25, 2013.

WANG L, *et.al.* Simvastatin reduces circulating plasminogen activator inhibitor 1 activity in volunteers with the metabolic syndrome. **Metab Syndr Relat Disord**. 2008 Jun;6(2):149-52. doi: 10.1089/met.2008.0012.]

WILSON,P.W *et.al.* Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. **Circulation**. [s.l.] v. 97, p.1837- 47, 1998.

WINGEYER, S.D.P *et.al.* Biomarkers in sepsis at time zero: intensive care unit scores, plasma measurements and polymorphisms in Argentina. **The Journal of Infection in Developing Countries**. [s.l.] v.23, p.555-62, 2012.

WORM SW *et.al.* Presence of the metabolic syndrome is not a better predictor of cardiovascular disease than the sum of its components in HIV-infected individuals. **Diabetes Care** 2009; 32:474-80.

WYSEURE T, Rubio M, Denorme F, Martinez de Lizarrondo S, Peeters M, Gils A, De Meyer SF, Vivien D, Declerck PJ. Innovative thrombolytic strategy using a heterodimer diabody against TAFI and *PAI-1* in mouse models of thrombosis and stroke. **Blood**. 2015 Feb 19;125(8):1325-32. doi: 10.1182/blood-2014-07-588319. Epub 2014 Dec 24.

YKI-JÄRVINEN H *et.al.* Regulation of plasma *PAI-1* concentrations in HAART-associated lipodystrophy during rosiglitazone therapy. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. [s.l.] Apr 1; 23 (4): 688-94, 2003.

YOSHIMASA ASO *et.al.* Metabolic Syndrome Accompanied by Hypercholesterolemia Is Strongly Associated With Proinflammatory State and Impairment of Fibrinolysis in Patients With Type 2 Diabetes: Synergistic effects of plasminogen activator inhibitor-1 and thrombinactivatable fibrinolysis inhibitor. **Diabetes Care** 28:2211–2216, 2005.

YOUNG EM, *et.al.* Changes in thrombolytic and inflammatory markers after initiation of indinavir- or amprenavir-based antiretroviral therapy. **Cardiovasc Toxicol**. [s.l.] 4(2):179-86, 2004.

ZORIO, E. *et.al.* FIBRINOLYSIS: the key to new pathogenetic mechanism. **Current Medicinal Chemistry**. [s.l.] v.15, p.923-9, 2008.

## APÊNDICES

## Apêndice A – Termo de Consentimento Livre Esclarecido

Eu, \_\_\_\_\_, (responsável pelo paciente: \_\_\_\_\_), permito a admissão do mesmo no estudo **“Investigação prospectiva sobre lipodistrofia e alterações metabólicas (síndrome metabólica e perda de massa óssea) como efeito adverso da terapia anti-retroviral em adultos, adolescentes e crianças com HIV/aids no Estado de Pernambuco com avaliação não invasiva de dano vascular e estudo do polimorfismo genético associado à resistência à insulina”**, a ser realizado no Hospital Universitário Oswaldo Cruz, Hospital Correia Picanço e Hospital das Clínicas coordenado pelo Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho.

Em conseqüência, permito realizar alguns exames laboratoriais e de imagem (radiológicos) necessários ao estudo.

Antes de minha participação um profissional envolvido no trabalho me informou que esse estudo é uma investigação sobre síndrome metabólica, lipodistrofia e alterações ósseas como efeito adverso da terapia anti-retroviral em adultos, adolescentes e crianças com HIV/Aids.

Autorizo a equipe a fazer algumas perguntas e responderei ao questionário sobre o tema (alterações na aparência física relacionadas ao aumento ou diminuição de gordura no corpo conseqüente ao tratamento anti-retroviral) e sobre alguns hábitos e comportamentos. A participação no estudo implica em coleta de sangue com agulha e tubo de coleta com material descartável, perfurando-se a pele até alcançar a veia do braço. Este procedimento pode causar um leve desconforto, como dor no local da punção, e, raramente, levar ao aparecimento de uma mancha roxa ao redor da picada, causada pelo extravasamento de pequena quantidade de sangue (hematoma). A equipe de pesquisa tentará sempre que possível encaixar tais exames nas coletas para exames de rotina a fim de evitar desconforto. Poderão ser realizados, conjuntamente, exames radiológicos como radiografia e densitometria óssea e durante as consultas medicas serão feitas mensurações antropométricas (serão tomadas medidas de algumas partes do seu corpo). Estes exames envolvem baixo risco de problemas na sua realização, embora possam causar pequeno desconforto para algumas pessoas. Você terá acesso a todos os resultados dos exames que serão entregues pelo seu medico, por ocasião das consultas, sendo feitos os esclarecimentos em relação aos achados.

Permito a guarda de qualquer material coletado para exame laboratorial com o objetivo futuro de pesquisa médica ou educacional. Autorizo ainda a utilização das informações médicas obtidas de minha pessoa em reuniões, congressos e publicações científicas sem que meu nome apareça ou que haja possibilidades de ser identificado.

Finalmente, estou ciente que caso eu deseje mais esclarecimentos ou caso eu tenha qualquer dúvida sobre a pesquisa, a equipe de pesquisadores me responderá a qualquer dúvida pelos telefones 81 2101 1333 ou 9976 4712 nos horários das 8:00 às 16:00 horas. Caso eu não queira participar ou se quiser desistir em qualquer momento, isso não vai implicar em nenhum prejuízo de qualquer natureza para minha pessoa ou de meus familiares. Eu concordo em participar deste estudo, assinando esse termo em duas vias, ficando uma cópia comigo.

Recife, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente ou responsável

\_\_\_\_\_  
Demócrito de Barros Miranda Filho  
Coordenador da Pesquisa

\_\_\_\_\_  
Primeira Testemunha

\_\_\_\_\_  
Segunda Testemunha

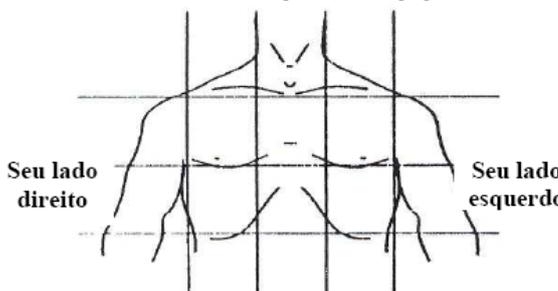
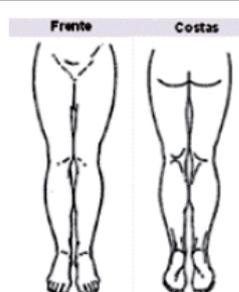


IV CONDIÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA INDIVÍDUO		
34 - Você sabe ler e escrever 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/>	35 - Qual foi a última série que você estudou e passou de ano ? 1. 1 a 9 Série <input type="checkbox"/> 2. 10 a 12 Série 3. 13 a 19 Série	36 - Na semana passada, você trabalhou em alguma atividade em que recebeu dinheiro ? 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/>
37 - Qual é a sua ocupação ? <input type="text"/>	38 - Você possui outro tipo de rendimento ? 1 - Sim 2 - Não (se sim vá para questão 40) 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	39 - Você recebeu no mês passado algum desses rendimentos abaixo ? 1 - Auxílio doença 2 - Aposentadoria por invalidez 3 - Aposentadoria por tempo de serviço 4 - Loas 5 - Aluguel 6 - Outros 7 - Não <input type="checkbox"/>
40 - Quanto de dinheiro o você recebeu no mês passado ? RS <input type="text"/>		
V HÁBITOS DE VIDA ( hábitos / dieta )		
Você se alimenta com algum dos alimentos abaixo todos os dias?		
41 - Leite 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 43) <input type="checkbox"/>	42 - Quantos copos de leite o você toma por dia? (01 copo de 250ml = 300mg de cálcio) 1 - Um copo 2 - Dois copos 3 - Três copos <input type="checkbox"/>	43 - Iogurte 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 44) <input type="checkbox"/>
43.1 - Quantas porções de iogurte o você toma por dia? (200 ml que equivale a 300mg de cálcio) 1 - Uma porção 2 - Duas porções 3 - Três ou mais porções <input type="checkbox"/>	44 - Coalhada 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 45) <input type="checkbox"/>	44.1 - Quantas porções de coalhada o senhor toma por dia? (200 ml que equivale a 300mg de cálcio) (1 pote) 1 - Uma porção 2 - Duas porções 3 - Três ou mais porções <input type="checkbox"/>
45 - Queijo 1 - Sim 2 - Não (vai para questão 46) <input type="checkbox"/>	45.1 - Quantas porções de queijo o você come por dia? (01 porção de queijo = 30g (fatia grossa) equivalente a 300mg de cálcio) 1 - Uma porção 2 - Duas porções <input type="checkbox"/>	46 - Verduras <input type="checkbox"/> 47 - Frutas <input type="checkbox"/>
( hábitos / atividade física )		
Pense em todas as atividades físicas vigorosas (pessada) que você realizou nos últimos 7 dias. Atividades físicas vigorosas são atividades que exigem esforço físico intenso e faz você respirar muito mais intensamente que o normal. Pense apenas naquelas atividades que você realizou por pelo menos dez minutos de cada vez.		
48 - Durante os últimos 7 dias, em quantos dias você realizou atividades físicas vigorosas tais como levantar objetos pesados, cavar, fazer ginástica ou andar de bicicleta em velocidade ? <input type="text"/> dias por semana <input type="checkbox"/> nenhuma atividade física vigorosa (vá para a questão 50)	49 - Quanto tempo você passava fazendo atividades físicas vigorosas num desses dias ? <input type="text"/> horas por dia <input type="text"/> minutos por dia <input type="checkbox"/> não sei/não tenho certeza	
Pense em todas as atividades físicas moderadas que você realizou nos últimos 7 dias. Atividades físicas moderadas são atividades que exigem esforço físico moderado e fazem você respirar um pouco mais intensamente que o normal. Pense apenas naquelas atividades que você realizou por pelo menos dez minutos de cada vez.		
50 - Durante os últimos 7 dias, em quantos dias você realizou atividades físicas moderadas tais como andar de bicicleta em velocidade normal, carregar pesos leves, jogar tênis em dupla? Não inclua caminhada. <input type="text"/> dias por semana <input type="checkbox"/> não realizei nenhuma atividade física moderada (vá para a questão 52)	51 - Quanto tempo você costumava passar fazendo atividades físicas moderadas num desses dias ? <input type="text"/> horas por dia <input type="text"/> minutos por dia <input type="checkbox"/> não sei/ não tenho certeza	

<p>Pense no tempo que você passou caminhando nos últimos 7 dias. Isto inclui no trabalho e em casa, caminhando para se deslocar de um lugar para outro e qualquer outra caminhada que pudesse ter feito somente por brincadeira, esporte, exercício ou lazer.</p>			
<p>52 - Durante os últimos 7 dias, em quantos dias você caminhou durante pelo menos 10 minutos de uma vez ?</p> <p><input type="text"/> dias por semana</p> <p><input type="text"/> não caminhei (vá para a questão 54)</p>		<p>53 - Quanto tempo você costumava passar caminhando num desses dias ?</p> <p><input type="text"/> horas por dia</p> <p><input type="text"/> minutos por dia</p> <p><input type="text"/> Não sei/não tenho certeza</p>	
<p>A última pergunta é sobre o tempo que você passou sentado em dias de semana nos últimos 7 dias. Inclua tempo passado no trabalho, em casa, realizando tarefas relacionadas a um curso e durante o tempo de lazer. Isso pode incluir o tempo passado sentado a uma escrivaninha, visitando amigos, lendo ou sentado ou deitado vendo televisão.</p>			
<p>54 - Durante os últimos 7 dias, quanto tempo você passou sentado num dia de semana ?</p> <p><input type="text"/> horas por dia      <input type="text"/> minutos por dia      <input type="text"/> Não sei/não tenho certeza</p>			
<p>( hábitos / ingestão de bebida alcoólica )</p>			
<p>55 - Na sua vida inteira, você já tomou pelo menos 8 drinks (Por drink, eu quero dizer meia cerveja, um copo de vinho ou uma dose de destilado (pinga, whisky, etc.) de qualquer tipo de bebida alcoólica)?</p> <p>1 - Sim <input type="text"/></p> <p>2 - Não (vai para questão 62)</p>		<p>56 - Já houve algum período na sua vida em que em um ano você tomou pelo menos 8 drinks contendo álcool ?</p> <p>1 - Sim <input type="text"/></p> <p>2 - Não (vai para questão 62)</p>	
<p>58 - Durante os últimos 3 meses, com que frequência você geralmente tomou cerveja, vinho, pinga ou qualquer outro tipo de bebida alcoólica?</p> <p>1 - Todos os dias      5 - 2 a 3 dias por mês      <input type="text"/></p> <p>2 - Quase todos os dias      6 - Uma vez por mês</p> <p>3 - 3 a 4 dias por semana      7 - Menos de uma vez por mês</p> <p>4 - 1 a 2 dias por semana</p>		<p>57 - Durante os últimos 30 dias, você bebeu pelo menos uma dose de alguma bebida alcoólica?</p> <p>1 - Sim <input type="text"/></p> <p>2 - Não (vai para questão 62)</p>	
<p>60 - Você está atualmente em tratamento para um problema com o álcool ?</p> <p>1 - Sim <input type="text"/></p> <p>2 - Não</p>		<p>59 - Nos dias em que você bebeu nos últimos 3 meses quantos drinks você geralmente tomou num único dia? Por drink, eu quero dizer: meia cerveja, um copo de vinho ou uma dose de destilado (pinga, whisky, etc.).</p> <p>9 - Não se aplica <input type="text"/></p>	
<p>( hábitos / tabagismo )</p>			
<p>62 - Você fuma cigarros atualmente ?</p> <p>1 - Sim <input type="text"/></p> <p>2 - Nunca fumei (vai para questão 67)</p> <p>3 - Fumou mas parou (vai para questão 64)</p> <p>4 - Não informado</p>		<p>63 - Quantos cigarros você fuma ?</p> <p>1 - 1 a 10 cigarros (até meio maço) por dia <input type="text"/></p> <p>2 - 11 a 20 cigarros (meio a um maço) por dia</p> <p>3 - mais de 20 cigarros (mais de um maço)</p> <p>4 - de um a dez cigarros por semana</p> <p>5 - não sei</p>	
<p>64 - Com que idade começou a fumar?</p> <p><input type="text"/> anos</p> <p><input type="text"/> não sabe informar</p>		<p>65 - Há quanto tempo parou de fumar ?</p> <p>1. Meses <input type="text"/></p> <p>2. Anos <input type="text"/></p> <p>3. Não sabe informar <input type="text"/></p> <p>4. Nunca parou</p>	
<p>66 - Até agora, quantos cigarros você acha que fumou durante a sua vida inteira?</p> <p>1 - entre 1 e 100 cigarros (até 5 maços) <input type="text"/></p> <p>2 - mais de 100 cigarros (mais de 5 maços)</p> <p>3 - não sei</p>		<p>67 - Você usa outros derivados do tabaco ?</p> <p>1 - Sim <input type="text"/></p> <p>2 - Não (pula a questão 69)</p> <p>3 - Usou mas parou</p>	
<p>68 - Qual dos abaixo listados?</p> <p>1 - cachimbo <input type="text"/></p> <p>2 - charuto</p> <p>3 - fumo de rolo mascado</p> <p>4 - cigarro de palha</p> <p>5 - cigarrilha</p> <p>6 - rapé</p>			
<p>( hábitos uso de drogas ilícitas )</p>			
<p>69 - Você já experimentou?</p>			
<p>69.1 - MACONHA</p> <p>1 - Nunca usei <input type="text"/></p> <p>2 - Fumei alguma vez na vida</p> <p>3 - Não fumei no último ano</p> <p>4 - Fumei no último ano</p>		<p>69.2 - COCAÍNA</p> <p>1 - Nunca usei <input type="text"/></p> <p>2 - Usei alguma vez na vida</p> <p>3 - Não usei no último ano</p> <p>4 - Usei no último ano</p>	
<p>69.3 - CRACK</p> <p>1 - Nunca usei (pipei) <input type="text"/></p> <p>2 - Usei alguma vez na vida</p> <p>3 - Não usei no último ano</p> <p>4 - Usei no último ano</p>		<p>69.4 - COLA</p> <p>1 - Nunca usei <input type="text"/></p> <p>2 - Usei alguma vez na vida</p> <p>3 - Não usei no último ano</p> <p>4 - Usei no último ano</p>	

VI – INFECÇÃO PELO HIV/AIDS				
70 - Há quanto tempo o você ficou sabendo que está com HIV/AIDS ?	71 - Você está apresentando algum destes problemas ?			
1. Dias <input type="text"/>	71.1 - Diarréia por 30 dias ou mais?	71.2 - Caspa na face e couro cabeludo e/ou problemas de pele ?	71.3 - Sapinho na boca ou cândida ?	71.4 - Gânglios (lândrias) em pelo menos dois locais do corpo há mais de um mês o
2. Meses <input type="text"/>				
3. Anos <input type="text"/>	1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/>	1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/>	1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/>	1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/>
72 - Você toma algum remédio (coquetel) para tratar o HIV/AIDS?	73 - Esse é o primeiro esquema do coquetel que você usa?	74 - De duas semanas para cá você deixou de tomar algum dos comprimidos (remédios) do coquetel?	75 - Se sim, quantos comprimidos você deixou de tomar?	
1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 105) <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar (vai para questão 105) <input type="checkbox"/>	1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>	1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>	<input type="text"/>	
76 - Você já parou o tratamento por sua conta alguma vez?	77 - Você percebeu alguma mudança na aparência do seu corpo após o início do tratamento para o HIV?	78 - Você acha que os seu braços estão afinando?	79 - Há quanto tempo?	
1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/>	1 - Sim (próximas) <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 105) <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar (vai para questão 105) <input type="checkbox"/>	1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 81) <input type="checkbox"/>	1 - Dias <input type="text"/> 2 - Meses <input type="text"/> 3 - Anos <input type="text"/>	
80 - O quanto esta mudança é percebida?		81 - Você acha que as suas pernas estão afinando?	82 - Há quanto tempo?	
1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente <input type="checkbox"/> 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebu <input type="checkbox"/> 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também <input type="checkbox"/> 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança <input type="checkbox"/>		1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 84) <input type="checkbox"/>	1 - Dias <input type="text"/> 2 - Meses <input type="text"/> 3 - Anos <input type="text"/>	
83 - O quanto esta mudança é percebida		84 - Você acha que as veias dos seu braços estão mais salientes?	85 - Há quanto tempo?	
1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente <input type="checkbox"/> 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebu <input type="checkbox"/> 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam <input type="checkbox"/> 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança <input type="checkbox"/>		1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 87) <input type="checkbox"/>	1 - Dias <input type="text"/> 2 - Meses <input type="text"/> 3 - Anos <input type="text"/>	
86 - O quanto esta mudança é percebida		87 - Você acha que as veias das suas pernas estão mais salientes?	88 - Há quanto tempo?	
1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente <input type="checkbox"/> 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebu <input type="checkbox"/> 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam <input type="checkbox"/> 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança <input type="checkbox"/>		1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 90) <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar (vai para questão 90) <input type="checkbox"/>	1 - Dias <input type="text"/> 2 - Meses <input type="text"/> 3 - Anos <input type="text"/>	
89 - O quanto esta mudança é percebida		90 - Você acha que o seu rosto ficou mais magro	91 - Há quanto tempo?	
1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente <input type="checkbox"/> 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebu <input type="checkbox"/> 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam <input type="checkbox"/> 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança <input type="checkbox"/>		1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 93) <input type="checkbox"/>	1 - Dias <input type="text"/> 2 - Meses <input type="text"/> 3 - Anos <input type="text"/>	
92 - O quanto esta mudança é percebida		93 - Você acha que suas nádegas estão diminuindo?	94 - Há quanto tempo?	
1 - Apenas eu percebo, quando me olho atentamente <input type="checkbox"/> 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebu <input type="checkbox"/> 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam <input type="checkbox"/> 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança <input type="checkbox"/>		1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 96) <input type="checkbox"/>	1 - Dias <input type="text"/> 2 - Meses <input type="text"/> 3 - Anos <input type="text"/>	

<b>95 - O quanto esta mudança é percebida</b> 1- Apenas eu percebo, quando me olho atentamente <input type="checkbox"/> 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebeu <input type="checkbox"/> 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam <input type="checkbox"/> 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança <input type="checkbox"/>	<b>96 - Você acha o tamanho da sua barriga (cintura) aumentou</b> 1- Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 99) <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar (vai para questão 99) <input type="checkbox"/>	<b>97 - Há quanto tempo?</b> 1 - Dias <input type="checkbox"/> 2 - Meses <input type="checkbox"/> 3 - Anos <input type="text"/> <input type="text"/>	
<b>98 - O quanto esta mudança é percebida</b> 1- Apenas eu percebo, quando me olho atentamente <input type="checkbox"/> 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebeu <input type="checkbox"/> 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam <input type="checkbox"/> 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança <input type="checkbox"/>	<b>99 - Você acha que seu pescoço está mais grosso</b> 1- Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 102) <input type="checkbox"/>	<b>100 - Há quanto tempo?</b> 1 - Dias <input type="checkbox"/> 2 - Meses <input type="checkbox"/> 3 - Anos <input type="text"/> <input type="text"/>	
<b>101 - O quanto esta mudança é percebida</b> 1- Apenas eu percebo, quando me olho atentamente <input type="checkbox"/> 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebeu <input type="checkbox"/> 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam <input type="checkbox"/> 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança <input type="checkbox"/>	<b>102 - Você acha que suas mamas aumentaram de tamanho</b> 1- Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 105) <input type="checkbox"/>	<b>103 - Há quanto tempo?</b> 1 - Dias <input type="checkbox"/> 2 - Meses <input type="checkbox"/> 3 - Anos <input type="text"/> <input type="text"/>	
<b>104 - O quanto esta mudança é percebida</b> 1- Apenas eu percebo, quando me olho atentamente <input type="checkbox"/> 2 - Eu percebo a mudança e meu médico durante o exame também percebeu <input type="checkbox"/> 3 - Eu percebo a mudança e meu marido(esposa), filho(a), mãe também perceberam <input type="checkbox"/> 4 - Eu percebo a mudança e todos que me conhecem percebem esta mudança <input type="checkbox"/>			
<b>VII - SINTOMAS / TUBERCULOSE</b>			
<b>105 - Você está tendo tosse?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 109) <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>	<b>106 - Há quanto tempo você está tossindo?</b> 1- Dias <input type="checkbox"/> 2 - Semanas <input type="checkbox"/> 3 - Meses <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="text"/> <input type="text"/> 9 - Não se aplica <input type="text"/> <input type="text"/>	<b>107 - Sua tosse tem catarro?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>	<b>108 - Seu catarro tem sangue?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>
<b>109 - Você está tendo febre?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 111) <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>	<b>110 - Há quanto tempo Você está tendo febre?</b> 1- Dias <input type="checkbox"/> 2 - Semanas <input type="checkbox"/> 3 - Meses <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="text"/> <input type="text"/> 9 - Não se aplica <input type="text"/> <input type="text"/>	<b>111 - Você sua enquanto está dormindo a ponto de molhar suas roupas?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>	<b>112 - Você está perdendo peso?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 115) <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>
<b>113 - Há quanto tempo Você está perdendo peso?</b> 1- Dias <input type="checkbox"/> 2 - Semanas <input type="checkbox"/> 3 - Meses <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="text"/> <input type="text"/> 9 - Não se aplica <input type="text"/> <input type="text"/>	<b>114 - Quantos quilos Você perdeu?</b> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Kg 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>	<b>115 - Você está sentindo falta de ar?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 117) <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>	
<b>116 - Há quanto tempo Você está sentindo falta de ar?</b> 1- Dias <input type="checkbox"/> 2 - Semanas <input type="checkbox"/> 3 - Meses <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="text"/> <input type="text"/> 9 - Não se aplica <input type="text"/> <input type="text"/>	<b>117 - Você está sentindo fraqueza?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 119) <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>	<b>118 - Há quanto tempo Você está sentindo fraqueza?</b> 1- Dias <input type="checkbox"/> 2 - Semanas <input type="checkbox"/> 3 - Meses <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="text"/> <input type="text"/> 9 - Não se aplica <input type="text"/> <input type="text"/>	

VIII - SINTOMAS / DOR TORÁCICA		
<p>119 - Você algumas vezes sente dor ou desconforto no peito ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não (vai para questão 121) <input type="checkbox"/></p>	<p>120 - Onde você sente esta dor ou desconforto ?</p> <p>Por favor marque um X nos lugares apropriados Aponte os locais apropriados</p> 	
<p>121 - Quando você caminha em velocidade normal em um lugar plano, isto provoca dor ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não <input type="checkbox"/></p> <p>3 - Incapaz <input type="checkbox"/></p>		
<p>122 - Quando você caminha numa subida ou quando anda com pressa, isso provoca a dor ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não <input type="checkbox"/></p> <p>3 - Incapaz <input type="checkbox"/></p>		
<p>123 - Quando você sente alguma dor ou desconforto no peito ao caminhar o que você faz ?</p> <p>1 - Páro <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Diminuo o ritmo <input type="checkbox"/></p> <p>3 - Contínuo no mesmo ritmo <input type="checkbox"/></p> <p>9 - Não se aplica <input type="checkbox"/></p>	<p>124 - A dor ou desconforto no peito desaparece se você ficar parado ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não <input type="checkbox"/></p> <p>9 - Não se aplica <input type="checkbox"/></p>	<p>125 - Quanto tempo leva para sumir ou desaparecer a dor ?</p> <p>1 - 10 minutos ou menos <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Mais de 10 minutos <input type="checkbox"/></p> <p>9 - Não se aplica <input type="checkbox"/></p>
<p>126 - Você tem dor ou desconforto na(s) perna(s) quando anda ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não (vai para questão 132) <input type="checkbox"/></p> <p>3 - Eu sou incapaz de andar <input type="checkbox"/></p>	<p>127 - Essa dor alguma vez começa quando você está em pé parado ou sentado ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não <input type="checkbox"/></p>	<p>131 - Onde você sente essa dor ou desconforto ? Marque com um "X" o(s) lugar(es) no diagrama abaixo.</p> 
<p>128 - Você tem essa dor ao subir uma ladeira ou quando anda rápido ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não <input type="checkbox"/></p>	<p>129 - Você tem essa dor quando anda no seu ritmo normal, no plano ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não <input type="checkbox"/></p>	
<p>130 - O que acontece com a dor quando você pára?</p> <p>1 - Geralmente continua por mais que 10 minutos <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Geralmente desaparecem em 10 minutos ou menos <input type="checkbox"/></p>		
IX - ANTECEDENTES PESSOAIS		
<p>132 - Você conhece alguém com tuberculose ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não (vai para questão 135) <input type="checkbox"/></p> <p>8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/></p>	<p>133 - Quando esta pessoa esteve doente ?</p> <p>1. Dias <input type="checkbox"/></p> <p>2. Meses <input type="checkbox"/></p> <p>3. Anos <input type="checkbox"/></p> <p>8. Não sabe informar <input type="checkbox"/></p> <p>9. Não se aplica <input type="checkbox"/></p>	<p>134 - Você e a pessoa com tuberculose dormiam na mesma casa ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não <input type="checkbox"/></p> <p>8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/></p> <p>9 - Não se aplica <input type="checkbox"/></p>
<p>135 - Você já realizou teste para tuberculose no braço (teste de Mantoux) ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não (vai para questão 137) <input type="checkbox"/></p> <p>8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/></p>	<p>136 - Se sim, você sabe informar o resultado ?</p> <p>1 - Positivo <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Negativo <input type="checkbox"/></p> <p>8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/></p>	<p>137 - O seu médico alguma vez passou remédio para PREVENIR a tuberculose ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não (vai para questão 139) <input type="checkbox"/></p> <p>8 - Não sabe informar (vai para questão 139) <input type="checkbox"/></p>
<p>138 - Você tomou o remédio durante todo o tempo que o médico disse para tomar ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não <input type="checkbox"/></p> <p>8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/></p> <p>9 - Não se aplica <input type="checkbox"/></p>	<p>139 - Você já se TRATOU para tuberculose alguma vez na sua vida ?</p> <p>1 - Sim <input type="checkbox"/></p> <p>2 - Não (vai para questão 142) <input type="checkbox"/></p> <p>8 - Não sabe informar (vai para questão 142) <input type="checkbox"/></p>	<p>140 - Há quanto tempo você teve a doença ?</p> <p>1. Dias <input type="checkbox"/></p> <p>2. Meses <input type="checkbox"/></p> <p>3. Anos <input type="checkbox"/></p> <p>8. Não sabe informar <input type="checkbox"/></p> <p>9. Não se aplica <input type="checkbox"/></p>

<b>141 - Você tomou os remédios para tratar a tuberculose durante o período que o médico disse para o sr (a) tomar ?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>	<b>142 - Você foi informado por profissional de saúde que tem diabetes mellitus (açúcar no sangue) ?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 147) <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar (vai para questão 147) <input type="checkbox"/>	<b>143 - Há quanto tempo você soube que tem diabetes mellitus ?</b> 1. Dias <input type="checkbox"/> 2. Meses <input type="checkbox"/> 3. Anos <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9. Não se aplica <input type="checkbox"/>	
<b>144 - Você soube que tem diabetes antes de saber que estava com HIV/aids ?</b> 1 - Sim (vai para questão 87) <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/>	<b>145 - Você soube que tem diabetes após o tratamento para HIV/aids?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 3 - Não se trata para HIV/aids <input type="checkbox"/>	<b>146 - Você faz uso de alguma medicação para diabetes?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
<b>147 - Você está tomando alguns destes remédios?</b>			
<b>147.1 - Insulina</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	<b>147.2 - Metformina</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	<b>147.3 - Atenolol</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
<b>147.4 - Propranolol</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	<b>147.5 - Hidroclorotiazida</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	<b>147.6 - Estatina (Pravastatina; atorvastatina; simvastatina)</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	<b>147.7 - Anticonvulsivante nos últimos 30 dias (Fenobarbital / Hidantal / Carbanazepina / Ácido Valproico)</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>
<b>148 - Você faz uso de comprimido ou xarope de polivitamínicos diariamente?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/>	<b>149 - Você faz reposição de Cálcio (carbonato de cálcio) diariamente?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>		
<b>150 - Você tomou algumas dessas medicações nos últimos 6 meses?</b>			
<b>150.1 - Hormônio feminino ou anticoncepcional (pílula ou injetável) ou reposição hormonal ?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	<b>150.2 - Anabolizante – testosterona (Decadurabolín®) ou oxandrolona</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	<b>150.3 - Corticóide – também conhecido como: prednisona, dexametasona, cortisol, Diprosam®, Meticorten® por mais de 90 dias contínuos nos últimos seis meses?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
<b>151 - No último ano você tomou alguma medicação para osteoporose por mais de 15 dias? (Alendronato, risedronato, ibandronato?)</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	<b>152 - Nos últimos seis meses o você sofreu alguma fratura (quebrou algum osso do corpo)?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 154) <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar (vai para questão 154) <input type="checkbox"/>	<b>153 - Como aconteceu essa fratura?</b> 1 - queda da própria altura; 2 - trauma (acidente de carro, moto, bicicleta, atropelamento, queda de altura); 3 - nenhum trauma ou pancada <input type="checkbox"/>	
<b>154 - Você soube por algum profissional de saúde que tem alguma dessas doenças?</b>			
<b>154.1 - Câncer ou linfoma</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	<b>154.2 - Doença crônica do fígado ou cirrose</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	<b>154.3 - Síndrome de Cushing</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
<b>154.4 - Lipodistrofia familiar ou hereditária</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>	<b>154.5 - Você tem insuficiência renal crônica</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/>		
<b>155 - Você foi informado por algum profissional de saúde que tem pressão alta?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não (vai para questão 159) <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar (vai para questão 159) <input type="checkbox"/>	<b>156 - Você soube que tinha pressão alta antes de saber que estava com HIV/aids?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>	<b>157 - Você soube que tem pressão alta depois do tratamento para o HIV/aids?</b> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar <input type="checkbox"/> 9 - Não se aplica <input type="checkbox"/>	

<p>158 - Você faz uso de alguma medicação para pressão alta?</p> <p>1 - Sim 2 - Não 3 - Já fez mas parou</p> <input type="checkbox"/>	<p>159 - Você foi informado por profissional de saúde que tem gordura (colesterol ou triglicerídeos) aumentada no sangue?</p> <p>1 - Sim 2 - Não (vai para questão 165) 8 - Não sabe informar (vai para questão 165)</p> <input type="checkbox"/>	<p>160 - Qual o tipo de gordura você foi informado(a) que está aumentada?</p> <p>1 - Colesterol 2 - Triglicerídeos 3 - Colesterol e Triglicerídeos 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>
<p>161 - Você soube que tem gordura aumentada no sangue antes do diagnóstico do HIV/aids?</p> <p>1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>	<p>162 - Você soube que tem gordura aumentada no sangue após o tratamento para HIV/aids?</p> <p>1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>	<p>163 - Você faz uso de alguma medicação para baixar o colesterol no sangue?</p> <p>1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>
<p>164 - Você faz uso de alguma medicação para baixar o triglicerídeo no sangue?</p> <p>1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>	<p>165 - Você já teve infarto do coração ?</p> <p>1 - Sim 2 - Não (vai para questão 169) 8 - Não sabe informar (vai para questão 169)</p> <input type="checkbox"/>	<p>166 - Se sim, há quanto tempo você teve infarto do coração ?</p> <p>1 - Dias 2 - Meses 3 - Anos 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica</p> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<p>167 - Você teve infarto do coração antes de saber que estava com HIV/aids?</p> <p>1 - Sim (vai para a questão 103) 2 - Não 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>	<p>168 - O senhor(a) teve infarto do miocárdio após o tratamento para HIV/aids?</p> <p>1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>	<p>169 - Você já teve angina do peito?</p> <p>1 - Sim 2 - Não (vai para questão 171) 8 - Não sabe informar (vai para questão 171)</p> <input type="checkbox"/>
<p>170 - Se sim, há quanto tempo você teve angina do peito?</p> <p>1 - Dias 2 - Meses 3 - Anos 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica</p> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<p>171 - Você já fez alguma cirurgia no coração (ponte de safena, colocação de stent)?</p> <p>1 - Sim 2 - Não (vai para questão 175) 8 - Não sabe informar (vai para questão 175)</p> <input type="checkbox"/>	<p>172 - Você fez cirurgia no coração (ponte de safena, colocação de stent) antes do diagnóstico do HIV?</p> <p>1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>
<p>173 - Você fez cirurgia no coração (ponte de safena, colocação de stent) após o tratamento de HIV/aids?</p> <p>1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>	<p>174 - Quanto tempo antes de saber que estava com HIV/aids você fez a cirurgia de ponte de safena /angioplastia?</p> <p>1 - Dias 2 - Meses 3 - Anos 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica</p> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
<p>175 - Você já teve derrame cerebral?</p> <p>1 - Sim 2 - Não (vai para questão 179) 8 - Não sabe (vai para questão 179)</p> <input type="checkbox"/>	<p>176 - Se sim, há quanto tempo o senhor teve derrame cerebral ?</p> <p>1 - Dias 2 - Meses 3 - Anos 8 - Não sabe informar 9 - Não se aplica</p> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<p>177 - Você teve o derrame cerebral antes de saber que estava com HIV/aids?</p> <p>1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>
<p>178 - Você teve o derrame cerebral após o tratamento para HIV/aids?</p> <p>1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>	<p>179 - Você esteve internado nos últimos 90 dias?</p> <p>1 - Sim 2 - Não</p> <input type="checkbox"/>	<p>180 - Na sua vida adulta qual foi o menor peso que o senhor teve?</p> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Kg 8 - Não sabe informar
<b>QUESTÕES ESPECÍFICAS PARA AS MULHERES</b>		
<p>181 - Quantas vezes a senhora menstruou (regras) nos últimos três meses?</p> <p>1 - Uma 2 - Duas 3 - Três 4 - Nenhuma</p> <input type="checkbox"/>	<p>182 - A senhora está grávida?</p> <p>1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>	<p>183 - A senhora se encontra na menopausa?</p> <p>1 - Sim 2 - Não (vai para questão 185) 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>
<b>X - ANTECEDENTES FAMILIARES</b>		
<p>185 - Seu pai ou mãe ou irmãos de sangue tiveram ou têm?</p>		
<p>185.1 - Pressão alta?</p> <p>1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>	<p>185.2 - Diabetes mellitus (açúcar no sangue)?</p> <p>1 - Sim 2 - Não 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>	<p>185.3 - Ataque cardíaco (infarto/princípio de infarto / angina)?</p> <p>1 - Sim 2 - Não (vai para questão 187) 8 - Não sabe informar</p> <input type="checkbox"/>

<b>186 - Quem teve o ataque cardíaco?</b>			
186.1 - Mãe e tinha menos de 60 anos: 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/>	186.2 - Irmã e tinha menos de 60 anos: 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/>	186.3 - Pai e tinha menos de 60 anos: 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/>	186.4 - Irmão e tinha menos de 60 anos: 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/>
187 - Seus pais ou irmãos de sangue morreram de repente com doença do coração? (em menos de 01 horas) 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar		188 - Seus pais ou irmãos de sangue tiveram ou têm osteoporose? 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 8 - Não sabe informar	
<b>XI- DADOS ANTROPOMÉTRICOS</b>			
189 - Peso: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Kg	190 - Altura: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> cm	191 - IMC: <input type="text"/> <input type="text"/> , <input type="text"/>	
192 - Circunferência abdominal:: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> , <input type="text"/> cm	193 - Quadril: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> , <input type="text"/> cm	194 - Circunferência braquial <input type="text"/> <input type="text"/> , <input type="text"/>	
195 - Prega cutânea tricipital: <input type="text"/> <input type="text"/> , <input type="text"/> cm	196 - Pressão Arterial Inicial <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> x <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	197 - Pressão Arterial final: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> x <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	







V - RESULTADOS DE EXAMES LABORATÓRIAS						
27. Acompanhamento laboratorial geral						
EXAME	Valor	Data	Valor	Data	Valor	Data
Hto		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Hb		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
TGO		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
TGP		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Sódio		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Potássio		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Cloreto		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Bicarbonato		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
FA		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
BD		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
CT		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
HDL		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
LDL		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Triglicerídeos		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Glicemia de jejum		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Lactato		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
Insulina de jejum		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
HbA1c		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
PTH		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /

TSH		/ /		/ /		/ /
Albumina		/ /		/ /		/ /
25OH VIT.D		/ /		/ /		/ /
PCR ultrasensível		/ /		/ /		/ /
Homocisteína		/ /		/ /		/ /
CTX		/ /		/ /		/ /
		/ /		/ /		/ /
VI – RESULTADOS DE RX						
<b>28. Radiografia de tórax</b>	<b>Data</b>	<b>Resultado</b>				
1. Inicial	/ /					
2. Na entrada do paciente na coorte de tratamento da tuberculose	/ /					
3. Após 2 meses do RX de entrada na coorte de tratamento da tuberculose	/ /					
1. Normal 2. Acometimento pulmonar unilateral 3. Acometimento pulmonar bilateral 4. Acometimento pleural unilateral 5. Acometimento pleural bilateral 6. Fibrose pulmonar 7. Consolidação segmentar ou lobar	8. Infiltrado focal 9. Infiltrado difuso 10. Infiltrado Miliar 11. Cavidade simples 12. Múltiplas cavidades 13. Nódulos 14. Granulomas (nódulos calcificados)		15. Bronquectasias 16. Linfonodomegalia 17. Derrame pleural 18. Espessamento pleural 19. Pneumotórax 20. Fibrose cicatricial 21. Aumento de área cardíaca			
VII – RESULTADOS DE PPD						
<b>29. Resultado do PPD</b> 1. Pesquisa 2. Não pesquisa 8. Sem Registro 9. Não se aplica						
<b>29.1 – PPD 1</b>			<b>29.2 – PPD 2</b>			
_____ mm	data ___/___/___	<input type="checkbox"/>	_____ mm	data ___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>29.3 – PPD 3</b>			<b>29.4 – PPD 4</b>			
1. _____ mm	data ___/___/___	<input type="checkbox"/>	_____ mm	data ___/___/___	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>29.5 – Qual o tempo de leitura do PPD</b> 1. 72 horas 8 Sem registro 2. 96 horas 9. Não se aplica <input type="checkbox"/>						
PPD 1: Para pacientes que estão entrando na pesquisa ou que tenham registro documental de resultado de PPD realizado nos últimos 6 meses. PPD 2: Para pacientes que já utilizavam anti-retroviral no início do estudo e tiveram o PPD 1 não reator. O PPD 2 deverá ser realizado após 1 ano do PPD 1. PPD 3: Para pacientes que iniciaram anti-retroviral após a realização do PPD 1 e foram não reatores. O PPD 3 deverá ser realizado após 6 meses de iniciada a terapia anti-retroviral. PPD 4: Para pacientes que iniciaram anti-retroviral após a realização do PPD 1 e do PPD 2 e foram não reatores. O PPD 4 deverá ser realizado após 1 ano de iniciada a terapia anti-retroviral.						
<b>30. Foram solicitados exames para investigação de tuberculose doença?</b>						
1. Sim <input type="checkbox"/>						
2. Não (Siga para questão 34)						
9. Não se aplica						

31. Mapa de exames laboratoriais para tuberculose							
Exame	Espécime	Resultado	Data	Exame	Espécime	Resultado	Data
Baciloscopia			/ /	PCR (Roche)			/ /
Baciloscopia			/ /	PCR (Rosseti)			/ /
Baciloscopia			/ /	PCR (Sangue)			/ /
Baciloscopia			/ /	PCR in - house			/ /
Cultura inicial			/ /	Histológico			/ /
Cultura após falência			/ /				
Codificação para o espécime:							
1 - Escarro espontâneo		2 - Escarro induzido		3 - Lavado broncoalveolar		4 - Linfonodo	
7 - Pericárdio		8 - Peritônio		9 - Outros		5 - Pleura	
						6 - LCR	
Codificação para os resultados da baciloscopia, cultura, PCR e histológico:							
1 - Positiva		2 - Negativa		3 - Não realizada			
32. Foi realizado teste de sensibilidade para as drogas da tuberculose?		33. Qual o resultado do teste de sensibilidade?		34. Fez tomografia?		35. Se sim, qual a região tomografada?	
1. Sim <input type="checkbox"/>		1. NT (Não Testado)		1. Sim <input type="checkbox"/>		Para cada resposta registre 1. Sim 2. Não 9. Não se aplica	
2. Não <input type="checkbox"/>		2. S (Sensível)		2. Não <input type="checkbox"/>		1. Tórax <input type="checkbox"/>	
		3. R (Resistente)		9. Não se aplica <input type="checkbox"/>		2. Abdome <input type="checkbox"/>	
		1. Isoniazida <input type="checkbox"/>				3. Crânio <input type="checkbox"/>	
		2. Rifampicina <input type="checkbox"/>				4. Coluna <input type="checkbox"/>	
		3. Pirazinamida <input type="checkbox"/>				5. Não se aplica <input type="checkbox"/>	
		4. Etambutol <input type="checkbox"/>				6. Outras <input type="checkbox"/>	
		5. Etionamida <input type="checkbox"/>					
		6. Estreptomina <input type="checkbox"/>					
36. Qual o resultado da tomografia?				37. Iniciou tratamento para tuberculose?			
1. Data ___/___/___ <input type="checkbox"/>				1. Sim Data: ___/___/___ <input type="checkbox"/>			
8. Sem registro <input type="checkbox"/>				2. Não (Siga para a questão 52) <input type="checkbox"/>			
9. Não se aplica <input type="checkbox"/>				9. Não se aplica <input type="checkbox"/>			
Codificação para a resultado da Tomografia do tórax:							
1. Normal		9. Granulomas (nódulos calcificados)		14. Linfonodomegalia mediastinal de densidade heterogênea			
2. Acometimento pulmonar unilateral		10. Consolidação segmentar ou lobar com broncograma		15. Pneumotórax			
3. Acometimento pulmonar bilateral		11. Bronquiectasias		16. Pneumomediastino			
4. Acometimento pleural unilateral		12. Linfonodomegalia hilar unilateral de densidade heterogênea		17. Derrame pleural			
5. Acometimento pleural bilateral		13. Linfonodomegalia hilar bilateral de densidade heterogênea		18. Micronódulos em região perivascular e parasseptal			
6. Fibrose pulmonar				19. Infiltrado micronodular difuso e aleatório. Nódulos > 6 mm e pequenas cavidades			
7. Fibrose pleural				20. Nódulos > 6 mm e pequenas cavidades			
8. Imagem de árvore em brotamento				Outros:			
Codificação para a tomografia do tórax							
21. Nódulo hepático único		24. Espessamento de alça do intestino delgado		27. Ascite			
22. Nódulos hepáticos		25. Espessamento de alça do intestino grosso		28. Hepatomegalia			
23. Linfonodomegalia		26. Nódulos peritoneais		29. Esplenomegalia			
				Outros:			
37. Iniciou tratamento para tuberculose?							
1. Sim Data: ___/___/___ <input type="checkbox"/>							
2. Não (Siga para a questão 52) <input type="checkbox"/>							
9. Não se aplica <input type="checkbox"/>							
38. Mapa de drogas para tratar tuberculose							
Droga	Início	Interrupção	Substituição	Reinício	Causa	Fim	
INH	/ /	/ /	/ /	/ /		/ /	
RMP	/ /	/ /	/ /	/ /		/ /	
PZA	/ /	/ /	/ /	/ /		/ /	
EMB	/ /	/ /	/ /	/ /		/ /	

SM	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
ETH	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
<b>Codificação causa de interrupção/substituição do tratamento para tuberculose:</b>					
1. Abandono      2. Falência      3. Óbito      4. Reação adversa      5. Síndrome de Resposta Inflamatória (reação paradoxal) 6. Mudança de diagnóstico      7. Transferência      8. Outro					
<b>39. Caso o tratamento tenha sido interrompido por reação adversa, identifique qual ou quais as reações:</b> Para cada resposta registre 1. Sim 2. Não 9. Não se aplica 1. Hepatotoxicidade <input type="checkbox"/> 2. Intolerância gástrica <input type="checkbox"/> 3. Neuropatia periférica <input type="checkbox"/> 4. Exantema <input type="checkbox"/> 5. Artralgia <input type="checkbox"/> 6. Distúrbios hematológicos <input type="checkbox"/> 7. Outros <input type="checkbox"/>			<b>40. Há registro de utilização de uma das drogas abaixo, por ocasião do tratamento da tuberculose?</b> Para cada resposta registre 1. Sim 2. Não 9. Não se aplica 1. Sufadiazina <input type="checkbox"/> 2. Sulfametoxazol/Trimetoprim <input type="checkbox"/> 3. Fluconazol <input type="checkbox"/> 4. Azitromicina <input type="checkbox"/> 5. Anfotericina B <input type="checkbox"/> 6. Ganciclovir <input type="checkbox"/>		
<b>41. Qual a localização da tuberculose?</b> 1. Pulmonar <input type="checkbox"/> 2. Extrapulmonar <input type="checkbox"/> 3. Pulmonar e extrapulmonar <input type="checkbox"/> 4. Disseminada <input type="checkbox"/>		<b>42. Qual o regime de acompanhamento do paciente por ocasião do início do tratamento para tuberculose?</b> 1. Regime ambulatorial <input type="checkbox"/> 2. Regime de internamento <input type="checkbox"/>		<b>43. O paciente fez uso de antibióticos para tratar sintomas respiratórios nos últimos 15 dias que antecederam o tratamento para tuberculose?</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>	
<b>44. Se sim, o paciente melhorou com este tratamento (baseado no registro de melhora pelo médico assistente)?</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 9. Não se aplica <input type="checkbox"/>		<b>45. O paciente fez uso de drogas anti-retrovirais antes ou durante o tratamento para tuberculose?</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não (Siga para a questão 48) <input type="checkbox"/>		<b>46. Se sim, em que momento do tratamento para tuberculose foi iniciada TARV?</b> 1. Antes do início do tratamento para tuberculose; <input type="checkbox"/> 2. Nos primeiros 2 meses do tratamento para tuberculose; <input type="checkbox"/> 3. Nos últimos 4 meses do tratamento para tuberculose; <input type="checkbox"/>	
<b>47. Quais os resultados do teste da isoniazida na urina?</b> Para cada uma das alternativas registre 1. positiva 2. negativa 3. não realizada 1. Primeiro mês <input type="checkbox"/> 2. Segundo mês <input type="checkbox"/> 3. Terceiro mês <input type="checkbox"/> 4. Quarto mês <input type="checkbox"/> 5. Quinto mês <input type="checkbox"/> 6. Sexto mês <input type="checkbox"/>			<b>48. O paciente concluiu o tratamento para tuberculose?</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
<b>49. Se sim, qual a data de conclusão do tratamento para tuberculose?</b> / /			<b>50. O paciente apresentou melhora clínica com o tratamento da tuberculose (baseado no registro de melhora pelo médico assistente)?</b> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		

<b>51. Desfecho final do tratamento para tuberculose?</b>		<b>52. Foi iniciada quimioprofilaxia para tuberculose?</b>	
<b>Desfecho</b>	<b>Data</b>	Data: ____/____/____ <input type="text"/>	
Cura com confirmação laboratorial	/ /	1. Sim	
Cura sem confirmação laboratorial	/ /	2. Não (Siga para a questão 57)	
Abandono	/ /	9. Não se aplica	
Óbito	/ /		
Falência	/ /		
<b>53. Mapa de quimioprofilaxia</b>			
<b>Droga</b>	<b>Início</b>	<b>Interrupção</b>	<b>Substituição</b>
INH	/ /	/ /	/ /
<b>Codificação para interrupção da quimioprofilaxia para tuberculose:</b> 1. Abandono 2. Óbito 3. Reação adversa 4. Mudança para a coorte de tratamento 5. Transferência 6. Outro			
<b>53.1. Codificação para reação adversa</b> para cada resposta registre 1. Sim 2. Não 9. Não se aplica			
1. Hepatotxicidade		2. Intolerância gástrica	<input type="text"/>
3. Neuropatia periférica		4. Exantema	
5. Artralgia		6. Distúrbios hematológicos	
7. Outros			
<b>54. O paciente fez uso de drogas anti-retrovirais antes ou durante a quimioprofilaxia para tuberculose?</b>		<b>55. Se sim, em que momento da quimioprofilaxia para tuberculose foram iniciados os anti-retrovirais?</b>	
1. Sim <input type="text"/>		1. Antes do início da quimioprofilaxia para tuberculose;	<input type="text"/>
2. Não (Siga para questão 56)		2. Durante a quimioprofilaxia para tuberculose;	
<b>56. Quais os resultados do teste da isoniazida na urina?</b> Para cada uma das alternativas registre 1. positiva 2. negativa 3. não realizada			
1. Primeiro mês	<input type="text"/>	2. Segundo mês	<input type="text"/>
3. Terceiro mês	<input type="text"/>	4. Quarto mês	<input type="text"/>
5. Quinto mês	<input type="text"/>	6. Sexto mês	<input type="text"/>
<b>VIII – COORTE DISTÚRBIOS METABÓLICOS</b>			
<b>Considera-se diagnóstico de síndrome metabólica quando estiverem presentes três ou mais dos cinco fatores a seguir:</b>			
* Circunferência da cintura ( $\geq 102$ cm em homens e $\geq 88$ cm em mulheres)			
* Hipertrigliceridemia ( $\geq 150$ mg/dl)			
* Nível de colesterol HDL baixo ( $< 40$ mg/dl em homens e $< 50$ mg/dl em mulheres)			
* Hipertensão arterial (pressão sistólica $\geq 130$ e/ou pressão diastólica $\geq 85$ mmHg e/ou em tratamento farmacológico)			
* Glicemia de jejum ( $\geq 100$ mg/dl)			
<b>Modelo objetivo clínico laboratorial de definição de lipodistrofia no HIV.</b>			
<b>Idade (anos)</b>		<b>Tempo de diagnóstico de HIV</b>	
1. $\leq 40$	<input type="text"/>	$\leq 4$ anos	<input type="text"/>
2. $> 40$		$> 4$ anos	
<b>HDL (mmol/L)</b>		<b>Anion gap</b>	
<b>Modelo objetivo de definição de lipodistrofia no HIV.</b>			
<b>LDL (mmol/L)</b>		<b>Estágio da doença (CDC)</b>	
$\leq 3$	<input type="text"/>	A	<input type="text"/>
$> 3$		B	
<b>Sexo</b>		C	
Masculino	<input type="text"/>	<b>Triglicerídeos</b>	<input type="text"/>
Feminino		<b>RCQ</b>	<input type="text"/>
<b>Lactato (mmol/L)</b>		<b>Constante</b>	<input type="text"/>
HDL : High density lipoprotein; LDL: Low density lipoprotein; RCQ: Relação cintura-quadril; x: sinal matemático de multiplicação; CDC Center of Disease Control			
<b>Execução e Interpretação:</b> Após a soma das pontuações de cada uma das variáveis e subtração do valor constante, obtém-se uma pontuação final. Se esta for maior ou igual a zero, é considerado diagnóstico de lipodistrofia. Valores menores que zero são considerados ausência de lipodistrofia			

Modelo objetivo clínico de definição de lipodistrofia no HIV.						
Idade (anos)			Tempo de diagnóstico de HIV			
1. ≤ 40	<input type="text"/>	0	≤ 4 anos	<input type="text"/>	0	
2. > 40		1,11	> 4 anos		1,22	
Mudança do CD4 desde o nadir		0,0129	Estágio da doença (CDC)			
Cintura (cm)		0,0261	A	<input type="text"/>	0	
Constante		-4,25	B		0,12	
<b>Total</b>			C		0,82	
57. QUADRO PARA NOTIFICAÇÃO DE FRATURAS						
VÉRTEBRA	GRAU I		GRAU II		GRAU III	
	VISITA I	VISITA FINAL	VISITA I	VISITA FINAL	VISITA I	VISITA FINAL
T4						
T5						
T6						
T7						
T8						
T9						
T10						
T11						
T12						
L1						
L2						
L3						
L4						
L5						
58. Apresentou fratura em coluna na 1ª avaliação?			59. Qual o grau da fratura?			
1. Sim Data ____/____/____	<input type="text"/>		1. Grau I	<input type="text"/>		
2. Não			2. Grau II			
8. Sem informação			3. Grau III			
9. Não se aplica			8. Sem informação			
			9. Não se aplica			
60. Apresentou fratura em coluna na 2ª avaliação?			61. Qual o grau da fratura?			
1. Sim Data ____/____/____	<input type="text"/>		1. Grau I	<input type="text"/>		
2. Não			2. Grau II			
8. Sem informação			3. Grau III			
9. Não se aplica			8. Sem informação			
			9. Não se aplica			
62. Apresentou fratura em fêmur?			63. Apresentou fratura em outros locais			
1. Sim Data ____/____/____	<input type="text"/>		1. Sim Data ____/____/____	<input type="text"/>		
2. Não			2. Não			
9. Não se aplica			9. Não se aplica			

64. Resultado da densitometria óssea							
Data ____/____/____							
DMO	1 - Data	g/cm <sup>2</sup>	Score T	2 - Data	g/cm <sup>2</sup>	Escore T	PMO
Colo do fêmur	/ /			/ /			
Trocanter	/ /			/ /			
Fêmur total	/ /			/ /			
L1 a L4	/ /			/ /			
65. Apresentou osteopenia na 1ª avaliação?		66. Apresentou osteopenia na 2ª avaliação?		67. Apresentou osteoporose na 1ª avaliação?			
1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>		1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>		1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>			
2. Não		2. Não		2. Não			
9. Não se aplica		9. Não se aplica		9. Não se aplica			
68. Apresentou osteoporose na 2ª avaliação?		69. Apresentou perda de massa óssea na 1ª avaliação?		70. Apresentou perda de massa óssea na 2ª avaliação?			
1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>		1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>		1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>			
2. Não		2. Não		2. Não			
9. Não se aplica		9. Não se aplica		9. Não se aplica			
71. Apresentou dislipidemia na 1ª avaliação?		72. Apresentou dislipidemia na 2ª avaliação?		73. Apresentou dislipidemia na 3ª avaliação?			
1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>		1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>		1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>			
2. Não		2. Não		2. Não			
9. Não se aplica		9. Não se aplica		9. Não se aplica			
74. Apresentou síndrome metabólica na 1ª avaliação?		75. Apresentou síndrome metabólica na 2ª avaliação?		76. Apresentou síndrome metabólica na 3ª avaliação?			
1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>		1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>		1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>			
2. Não		2. Não		2. Não			
9. Não se aplica		9. Não se aplica		9. Não se aplica			
77. Onda de pulso na 1ª avaliação?		78. Teve alteração de onda de pulso na 2ª avaliação?		79. Desenvolveu Diabetes mellitus na 1ª avaliação?			
Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>		Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>		Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>			
Valor <input type="checkbox"/>		Resultado <input type="checkbox"/>		2. Não			
1. Normal		1. Normal		8. Sem informação			
2. Alterada		2. Alterada		9. Não se aplica			
2. Não		2. Não					
9. Não se aplica		9. Não se aplica					
80. Desenvolveu Diabetes mellitus na 2ª avaliação?		81. Desenvolveu Diabetes mellitus na 3ª avaliação?		82. Desenvolveu lipodistrofia (LD) na 1ª avaliação?			
1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>		1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>		1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>			
2. Não		2. Não		2. Não			
8. Sem informação		8. Sem informação		8. Sem informação			
9. Não se aplica		9. Não se aplica		9. Não se aplica			
83. (Se Sim) Qual a apresentação clínica da lipodistrofia?		83.1. Qual o grau de intensidade da lipodistrofia?		84. Desenvolveu lipodistrofia (LD) na 2ª avaliação?			
1. Lipoatrofia <input type="checkbox"/>		1. Leve <input type="checkbox"/>		1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>			
2. Lipohipertrofia		2. Moderado		2. Não			
3. Lipodistrofia Mista		3. Grave		8. Sem informação			
8. Sem informação		9. Não se aplica		9. Não se aplica			
9. Não se aplica							
85. (Se Sim) Qual a apresentação clínica da lipodistrofia?		85.1. Qual o grau de intensidade da lipodistrofia?		86. Desenvolveu lipodistrofia (LD) na 3ª avaliação?			
1. Lipoatrofia <input type="checkbox"/>		1. Leve <input type="checkbox"/>		1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>			
2. Lipohipertrofia		2. Moderado		2. Não			
3. Lipodistrofia Mista		3. Grave		8. Sem informação			
8. Sem informação		9. Não se aplica		9. Não se aplica			
9. Não se aplica							

87. (Se Sim) Qual a apresentação clínica da lipodistrofia? 1. Lipotrofia <input type="checkbox"/> 2. Lipohipertrofia 3. Lipodistrofia Mista 8. Sem informação 9. Não se aplica	87.1. Qual o grau de intensidade da lipodistrofia? 1. Leve <input type="checkbox"/> 2. Moderado 3. Grave 9. Não se aplica	88. Apresentou alteração do C-telopeptídeo (CTX) na 1ª avaliação? 1. Sim <input type="checkbox"/> Data ____/____/____ 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica				
89. Apresentou alteração do C-telopeptídeo (CTX) na 2ª avaliação? 1. Sim <input type="checkbox"/> Data ____/____/____ 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica	90. Dosagem da vitamina D 1. Normal 2. Alterada 8. Sem informação 9. Não se aplica Valor <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td style="width: 20px; height: 20px;"></td><td style="width: 20px; height: 20px;"></td></tr><tr><td style="width: 20px; height: 20px;"></td><td style="width: 20px; height: 20px;"></td></tr></table>					
<b>IX – COORTE CARDIOVASCULAR</b>						
91. ESCORE DE FRAMINGHAM (Risco Cardiovascular) na 1ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos _____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) <input type="text"/> <input type="text"/> 88. Sem informação 99. Não se aplica	92. ESCORE DE FRAMINGHAM (Risco Cardiovascular) na 2ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos _____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) <input type="text"/> <input type="text"/> 88. Sem informação 99. Não se aplica	93. ESCORE DE FRAMINGHAM (Risco Cardiovascular) na 3ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos _____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) <input type="text"/> <input type="text"/> 88. Sem informação 99. Não se aplica				
94. ESCORE PROCAM (Risco Cardiovascular) na 1ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos _____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) <input type="text"/> <input type="text"/> 88. Sem informação 99. Não se aplica	95. ESCORE PROCAM (Risco Cardiovascular) na 2ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos _____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) <input type="text"/> <input type="text"/> 88. Sem informação 99. Não se aplica	96. ESCORE PROCAM (Risco Cardiovascular) na 3ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos _____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) <input type="text"/> <input type="text"/> 88. Sem informação 99. Não se aplica				
97. ESCORE UKPDS (Risco Cardiovascular) na 1ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos _____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) <input type="text"/> <input type="text"/> 88. Sem informação 99. Não se aplica	98. ESCORE UKPDS (Risco Cardiovascular) na 2ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos _____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) <input type="text"/> <input type="text"/> 88. Sem informação 99. Não se aplica	99. ESCORE UKPDS (Risco Cardiovascular) na 3ª avaliação? Data ____/____/____ Pontos _____ Risco de doença arterial coronariana (DAC) em 10 anos(%) <input type="text"/> <input type="text"/> 88. Sem informação 99. Não se aplica				
100. Presença de dor isquêmica na 1ª avaliação? Data ____/____/____ <input type="checkbox"/> 1. Angina definitiva 2. Angina possível 3. Sem angina	101. Presença de dor isquêmica na 2ª avaliação? Data ____/____/____ <input type="checkbox"/> 1. Angina definitiva 2. Angina possível 3. Sem angina	102. Presença de dor isquêmica na 3ª avaliação? Data ____/____/____ <input type="checkbox"/> 1. Angina definitiva 2. Angina possível 3. Sem angina				
103. Qual a classificação quanto à pressão arterial na 1ª avaliação? Valor <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> x <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="checkbox"/> Data ____/____/____ 1. Normotenso 2. Pré-hipertenso 3. Pressão elevada 8. Sem informação 9. Não se aplica		104. Se pressão elevada, qual a classificação da hipertensão 1. Estágio I 2. Estágio II 8. Sem informação 9. Não se aplica <input type="checkbox"/>				
105. Qual a classificação quanto à pressão arterial na 2ª avaliação? Valor <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> x <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="checkbox"/> Data ____/____/____ 1. Normotenso 2. Pré-hipertenso 3. Pressão elevada 8. Sem informação 9. Não se aplica		106. Se pressão elevada, qual a classificação da hipertensão 1. Estágio I 2. Estágio II 8. Sem informação 9. Não se aplica <input type="checkbox"/>				

<p><b>107. Qual a classificação quanto à pressão arterial na 3ª avaliação?</b>                  Valor <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> x <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>                  Data ____/____/____                  1. Normotenso                  2. Pré-hipertenso                  3. Hipertensão (pressão elevada)                  8. Sem informação                  9. Não se aplica</p>	<p><b>108. Se pressão elevada, qual a classificação da hipertensão</b>                  1. Estágio I                  2. Estágio II                  8. Sem informação                  9. Não se aplica</p>
<p><b>109. Qual a classificação quanto à pressão de pulso na 1ª avaliação?</b>                  Valor <input type="text"/> <input type="text"/>                  Data ____/____/____                  1. Normal                  2. Elevada                  8. Sem informação                  9. Não se aplica</p>	<p><b>110a. Qual a classificação quanto à pressão de pulso na 2ª avaliação?</b>                  Valor <input type="text"/> <input type="text"/>                  Data ____/____/____                  1. Normal                  2. Elevada                  8. Sem informação                  9. Não se aplica</p>
<p><b>110b. Qual a classificação quanto à pressão de pulso na 3ª avaliação?</b>                  Valor <input type="text"/> <input type="text"/>                  Data ____/____/____                  1. Normal                  2. Elevada                  8. Sem informação                  9. Não se aplica</p>	<p><b>110c. Situação do tratamento no momento do 1º exame?</b>                  1. Sem tratamento                  2. Primeiro esquema ARV com IP                  3. Primeiro esquema ARV sem IP                  9. Não se aplica</p>
<p><b>X – RESULTADOS DO USG DE CARÓTIDAS</b></p>	
<p><b>DOPPLER DE CARÓTIDAS 1º EXAME ( Espessamento de carótida)</b></p>	
<p><b>111. Realizou USG de Carótida?</b>                  1. Sim                  2. Não                  DATA ____/____/____                  Espessura carótida direita <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> mm                  Espessura carótida esquerda <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> mm                  Espessura total <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> mm</p>	<p><b>112. ESPESSURA AUMENTADA</b>                  1. Sim                  2. Não                  8. Sem informação                  9. Não se aplica</p>
<p><b>113. PRESENÇA DE PLACA</b>                  1. Sim                  2. Não                  8. Sem informação                  9. Não se aplica</p>	<p><b>114. Nr. De placas</b>                  8. Sem informação                  9. Não se aplica</p>
<p><b>115. Local Placa</b>                  1. Parede anterior ACC direita                  2. Parede anterior ACC esquerda                  3. Parede posterior ACC direita                  4. Parede posterior ACC esquerda                  5. Parede anterior bulbo carotídeo direito                  6. Parede anterior bulbo carotídeo esquerdo                  7. Parede posterior bulbo carotídeo direito                  8. Parede posterior bulbo carotídeo esquerdo                  9. Parede anterior ACInterna direita                  10. Parede anterior ACInterna esquerda                  11. Parede posterior ACInterna direita                  12. Parede posterior ACInterna esquerda                  99. Não se aplica</p>	<p><b>116. Grau de estenose (%) (Na presença de placa) Carótida</b>                  Direita <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>                  Esquerda <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>                  888. Sem informação                  999. Não se aplica</p>
<p><b>117. Ambas as alterações (espessamento e placas)</b>                  1. Sim                  2. Não                  8. Sem informação                  9. Não se aplica</p>	<p><b>118. Realizou todas as 12 medidas em carótidas direita e esquerda ?</b>                  1. Sim                  2. Não realizou as seguintes medidas</p>
<p><b>119. Conclusão do 1º Exame</b>                  1. Normal                  2. Espessura aumentada                  3. Placa                  4. Espessura aumentada + placa                  9. Não se aplica</p>	<p><b>Caso Não</b>                  2.1. Bulbo direito anterior                  2.2. Bulbo direito posterior                  2.3. Bulbo esquerdo anterior                  2.4. Bulbo esquerdo posterior                  2.5. ACI direita anterior                  2.6. ACI direita posterior                  2.7. ACI esquerda anterior                  2.8. ACI esquerda posterior</p>

120. USG Carótidas				
	Esquerda		Direita	
	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior
Diam. Luz ACC				
ACC1				
ACC2				
ACC3				
BULBO				
ACI1				
ACI2				
Média Espessura				
Média Máxima				
<b>USG DE CARÓTIDAS 2º EXAME (Espessamento de carótida)</b>				
121a. Situa;ao do tratamento no momento do 2º exame?		121b. Realizou USG de Carótida?		
1. Sem tratamento <input type="checkbox"/> 2. Primeiro esquema ARV com IP <input type="checkbox"/> 3. Primeiro esquema ARV sem IP <input type="checkbox"/> 9. Não se aplica		1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> DATA ____/____/____ Espessura carótida direita <input type="text"/> , <input type="text"/> <input type="text"/> mm Espessura carótida esquerda <input type="text"/> , <input type="text"/> <input type="text"/> mm Espessura total <input type="text"/> , <input type="text"/> <input type="text"/> mm		
122. ESPESSURA AUMENTADA		123. PRESENÇA DE PLACA		124. Nr. De placas
1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 8. Sem informação <input type="checkbox"/> 9. Não se aplica <input type="checkbox"/>		1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 8. Sem informação <input type="checkbox"/> 9. Não se aplica <input type="checkbox"/>		8. Sem informação <input type="checkbox"/> 9. Não se aplica <input type="checkbox"/>
125. Local Placa			126. Grau de estenose (%) (Na presença de placa)	
1. Parede anterior ACC direita <input type="text"/> 2. Parede anterior ACC esquerda <input type="text"/> 3. Parede posterior ACC direita <input type="text"/> 4. Parede posterior ACC esquerda <input type="text"/> 5. Parede anterior bulbo carotídeo direito <input type="text"/> 6. Parede anterior bulbo carotídeo esquerdo <input type="text"/> 7. Parede posterior bulbo carotídeo direito <input type="text"/>			8. Parede posterior bulbo carotídeo esquerdo <input type="text"/> 9. Parede anterior ACInterna direita <input type="text"/> 10. Parede anterior ACInterna esquerda <input type="text"/> 11. Parede posterior ACInterna direita <input type="text"/> 12. Parede posterior ACInterna esquerda <input type="text"/> 99. Não se aplica <input type="text"/>	
			Carótida Direita <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Esquerda <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> 888. Sem informação <input type="checkbox"/> 999. Não se aplica <input type="checkbox"/>	
127. Ambas as alterações (espessamento e placas)		128. Realizou todas as 12 medidas em carótidas direita e esquerda ?		
1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não realizou as seguintes medidas <input type="checkbox"/>		
129. Conclusão do 2º Exame		Caso Não		
1. Normal <input type="checkbox"/> 2. Espessura aumentada <input type="checkbox"/> 3. Placa <input type="checkbox"/> 4. Espessura aumentada + placa <input type="checkbox"/> 9. Não se aplica		2.1. Bulbo direito anterior <input type="text"/> 2.2. Bulbo direito posterior <input type="text"/> 2.3. Parede posterior bulbo carotídeo direito <input type="text"/> 2.4. Bulbo esquerdo posterior <input type="text"/> 2.5. ACI direita anterior <input type="text"/> 2.6. ACI direita posterior <input type="text"/> 2.7. Parede posterior ACInterna direita <input type="text"/> 2.8. ACI esquerda posterior <input type="text"/>		

130. USG Carótidas		Esquerda		Direita	
		Anterior	Posterior	Anterior	Posterior
ACC1					
ACC2					
ACC3					
BULBO					
ACI1					
ACI2					
Diam. Luz ACC					
<b>131. Acompanhamento Ultra-Som de carótida</b>					
131.1 – Situação no 1º Exame USG		131.2 Situação no 2º Exame USG		131.3 Situação ao final da coorte (1 ano)	
1. Sem esquema ARV <input type="checkbox"/> 2. Primeiro esquema ARV <input type="checkbox"/> 9. Não se aplica		1. Sem esquema ARV <input type="checkbox"/> 2. Primeiro esquema ARV <input type="checkbox"/> 3. Troca de primeiro esquema 8. Não realizou 9. Não se aplica		1. Manteve-se sem tratamento <input type="checkbox"/> 2. Manteve-se em primeiro esquema <input type="checkbox"/> 3. Mudou de condição (sem esquema e iniciou tratamento) 4. Mudou de condição (estava em primeiro esquema e mudou de tratamento) 5. Não realizou 2º exame 9. Não se aplica	
132. Em relação ao espessamento da camada média intimal da carótida nas duas avaliações:		133. Em relação às placas de ateroma na camada média intimal da carótida nas duas avaliações:		134. Fez uso de droga hipolipemiante entre o 1º e 2º USG?	
1. Não ocorreu <input type="checkbox"/> 2. Ocorreu no segundo exame 3. Aumentou (estava espessada e houve aumento) 4. Estabilização (estava espessada e não houve aumento) 5. Redução (estava espessada e houve redução)		1. Não ocorreu <input type="checkbox"/> 2. Surgiu no segundo exame 3. Aumentou (em número) 4. Estabilizou (presente nos dois exames) 5. Reduziu (em número)		1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não 8. Ignorado	
<b>XI – DESFECHO DO ERGOMÉTRICO</b>					
<b>TESTE ERGOMETRICO 1º TESTE ( Avaliação de isquemia por teste ergométrico)</b>					
135. Teste ergométrico (1º) realizado					
1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/>					
2. Não					
<b>136. EM REPOUSO</b>					
1. FC (frequência cardíaca)		<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> bpm/min		<b>4. ECG(eletrocardiograma):</b>	
2. PAS (pressão arterial sistólica):		<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> mmHg		4.1. Ritmo _____	
PAD (pressão arterial diastólica):		<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> mmHg		4.2. Eixo _____	
3. Segmento ST				4.3. Arritmia _____	
3.1. Normal		<input type="checkbox"/>		4.3.1. Sim	
3.2. Alterado				4.3.2. Não	
Supradesnivelamento		<input type="text"/> <input type="text"/> mm			
Infradesnivelamento		<input type="text"/> <input type="text"/> mm			

<b>137. Durante esforço máximo</b> 1. FC (frequência cardíaca) <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> bpm/min 2. PAS (pressão arterial sistólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> mmHg PAD (pressão arterial diastólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> mmHg 3. Segmento ST 3.1. Normal <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> 3.2. Alterado      Supradesnivelamento <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> mm Infradesnivelamento <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> mm 4. Tempo de esforço máximo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> min      seg 5. Inclinação da esteira <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> % 6. VO <sub>2</sub> <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> ml/kg min																																																																				<b>138. Pós esforço com 1 minuto</b> 1. FC (frequência cardíaca) <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> bpm/min 2. PAS (pressão arterial sistólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> mmHg PAD (pressão arterial diastólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> mmHg 3. Segmento ST 3.1. Normal <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> 3.2. Alterado      Supradesnivelamento <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> mm Infradesnivelamento <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> mm																																																							
<b>139. Pós esforço com 6 minutos</b> 1. FC (frequência cardíaca) <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> bpm/min 2. PAS (pressão arterial sistólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> mmHg PAD (pressão arterial diastólica): <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> mmHg 3. Segmento ST 3.1. Normal <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> 3.2. Alterado      Supradesnivelamento <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> mm Infradesnivelamento <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> mm																																																								<b>140. Sintomas</b> 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table>																																																																			
<b>141. Dor torácica típica</b> 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica									<b>142. Limitante</b> 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica									<b>143. Surgimento da dor</b> 1. Durante esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Pós esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica									<b>144. Dispnéia</b> 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica																																																																																																
<b>145. Limitante</b> 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica									<b>146. Surgimento da dispnéia</b> 1. Durante esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Pós esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica									<b>147. Claudicação</b> 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica									<b>148. Limitante</b> 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica																																																																																																
<b>149. Surgimento da claudicação</b> 1. Durante esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Pós-esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica									<b>150. Exame físico: Roncos e sibilos</b> 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica									<b>151. Exame físico: Crepitações</b> 1. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica									<b>152. Exame físico: Crepitações</b> 1. Durante esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Pós-esforço <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 8. Sem informação 9. Não se aplica																																																																																																
<b>153. Arritmias no Repouso</b> 1. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2.1. Tipo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table>													<b>154. Arritmias no pré-esforço</b> 1. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2.1. Tipo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table>													<b>155a. Arritmias no esforço</b> 1. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2.1. Tipo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2.2. Frequência <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> 2.2.1. Pouco frequente 2.2.2. Frequente 2.2.3. Raras 2.2.4. Ocasionais																			<b>155b. Arritmias no pós-esforço</b> 1. Não <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2. Sim <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2.1. Tipo <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td></tr></table> 2.2. Evolução da arritmia <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table> 2.2.1. Não apresentou arritmia 2.2.2. Arritmia semelhante 2.2.3. Arritmia mais frequente 2.2.4. Arritmia menos frequente																																																																														

<ol style="list-style-type: none"> <li>1. ES supra-ventriculares</li> <li>2. ES ventriculares</li> <li>3. EV ventriculares e supra-ventriculares</li> <li>4. Batimentos de fusão</li> <li>5. Períodos de Taquicardia supra ventricular</li> <li>6. Períodos de Taquicardia ventricular</li> <li>7. Ritmo juncional</li> <li>8. Fibrilação atrial</li> <li>9. P-R curto</li> <li>10. Síndrome de Wolf-Park.-White</li> <li>11. BAV de 1º Grau</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>12. BAV de 2º Grau tipo I</li> <li>13. BAV de 2º Grau tipo II</li> <li>14. BAV Total</li> <li>15. Bloqueio sino-atrial</li> <li>16. Dissociação AV</li> <li>17. Bloqueio de Ramo Direito</li> <li>18. Bloqueio de Ramo Esquerdo</li> <li>19. Bloqueio divisional antero-sup E</li> <li>20. Bloqueio divisional post-inferior</li> <li>21. Comando de MP</li> <li>22. MP-inibido</li> </ol>
<b>156. Critério de interrupção</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Cansaço físico/fadiga muscular <input type="checkbox"/></li> <li>2. Dor nos membros inferiores <input type="checkbox"/></li> <li>3. Dispnéia <input type="checkbox"/></li> <li>5. Dor torácica – progressiva ou intensa <input type="checkbox"/></li> <li>6. Arritmias <input type="checkbox"/></li> <li>7. Alterações do segmento ST <input type="checkbox"/></li> <li>8. Alterações da frequência cardíaca <input type="checkbox"/></li> <li>9. Sem informação <input type="checkbox"/></li> <li>10. Não se aplica <input type="checkbox"/></li> </ol>	<b>157. Conclusão final teste ergométrico</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Normal <input type="checkbox"/></li> <li>2. Alterado <input type="checkbox"/></li> <li>2.1. Sintoma <input type="checkbox"/></li> <li>2.2. Exame físico <input type="checkbox"/></li> <li>2.3. PA <input type="checkbox"/></li> <li>2.4. Arritmia <input type="checkbox"/></li> <li>2.5. ST <input type="checkbox"/></li> </ol>
<b>158. Escore de Duke</b> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>  <p>Formula: tempo (minutos) -5x (infradesnível de ST em mm) -4x (dor torácica: 0=sem dor, 1=dor não limitante, 2= dor limitante)</p>	<b>Risco de DAC</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Baixo risco <math>\leq 5</math> <input type="checkbox"/></li> <li>2. Risco intermediário +4 a -10</li> <li>3. Alto risco <math>\leq -11</math></li> <li>9. Não se aplica</li> </ol>
<b>TESTE ERGOMÉTRICO 2º TESTE ( Avaliação de isquemia por teste ergométrico)</b>	
<b>159. Teste ergométrico (1º) realizado</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/></li> <li>2. Não</li> </ol>	
<b>160. EM REPOUSO</b>	
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. FC (frequência cardíaca) <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> bpm/min</li> <li>2. PAS (pressão arterial sistólica): <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> mmHg</li> <li>PAD (pressão arterial diastólica): <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> mmHg</li> <li>3. Segmento ST</li> <li>3.1. Normal <input type="checkbox"/></li> <li>3.2. Alterado <input type="checkbox"/></li> <li style="padding-left: 20px;">Supradesnívelamento <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> mm</li> <li style="padding-left: 20px;">Infradesnívelamento <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> mm</li> </ol>	<b>4. ECG(eletrocardiograma):</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>4.1. Ritmo _____</li> <li>4.2. Eixo _____</li> <li>4.3. Arritmia _____</li> <li>4.3.1. Sim</li> <li>4.3.2. Não</li> </ol>



23. ES supra-ventriculares 24. ES ventriculares 25. EV ventriculares e supra-ventriculares 26. Batimentos de fúsião 27. Períodos de Taquicardia supra ventricular 28. Períodos de Taquicardia ventricular 29. Ritmo juncional 30. Fibrilação atrial 31. P-R curto 32. Síndrome de Wolf-Park.-White 33. BAV de 1º Grau	34. BAV de 2º Grau tipo I 35. BAV de 2º Grau tipo II 36. BAV Total 37. Bloqueio sino-atrial 38. Dissociação AV 39. Bloqueio de Ramo Direito 40. Bloqueio de Ramo Esquerdo 41. Bloqueio divisional antero-sup E 42. Bloqueio divisional post-inferior 43. Comando de MP 44. MP-imbido		
180. Critério de interrupção 1. Cansaço físico/fadiga muscular <input type="checkbox"/> 2. Dor nos membros inferiores 3. Dispneia 5. Dor torácica – progressiva ou intensa 6. Arritmias 7. Alterações do segmento ST 8. Alterações da frequência cardíaca 9. Sem informação 10. Não se aplica	181. Conclusão final teste ergométrico 1. Normal <input type="checkbox"/> 2. Alterado  2.1. Sintoma <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 2.2. Exame físico 2.3. PA 2.4. Arritmia 2.5. ST		
182. Escore de DukeEs <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>			
<b>XII – OUTRAS AVALIAÇÕES DE ISQUEMIA</b>			
Outras avaliações de isquemia:			
183. CINTILOGRAFIA MIOCÁRDICA 1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/> 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica	184. Resultado da Cintilografia Miocárdica 1. Normal <input type="checkbox"/> 2. Hipoperfusão transitória 3. Hipoperfusão persistente		
185. Resultado da Cintilografia Miocárdica quanto à extensão da alteração 1. Pequena <input type="checkbox"/> 2. Moderada 3. Extensa 9. Não se aplica	186. Resultado da Cintilografia Miocárdica quanto à intensidade da alteração 1. Discreta <input type="checkbox"/> 2. Moderada 3. Acentuada 9. Não se aplica		
187. Fração de ejeção após o esforço <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> % 99. Não se aplica	188. Escore de perfusão (QPS): SSS <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 99. Não se aplica	189. Escore de perfusão (QPS): SRS <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 99. Não se aplica	190. Escore de perfusão (QPS): SDS <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 99. Não se aplica
191. Percentual da área do VE acometido: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> % 99. Não se aplica	192. Dilatação isquêmica transitória: (IID) <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 99. Não se aplica	193. Número de segmentos acometidos: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 99. Não se aplica	194. Número de territórios vasculares acometidos: Vasos <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 99. Não se aplica
195. Conclusão da Cintilografia Miocárdica 1. Normal <input type="checkbox"/> 2. Alterada discreta em área de pequena extensão 3. Alteração moderada/importante em áreas de moderada/grande extensão 8. Sem informação 9. Não se aplica	196. Cateterismo Cardíaco 1. Sim Data ____/____/____ <input type="checkbox"/> 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica	197. Resultado do cateterismo cardíaco 1. Doença de 1 vaso <input type="checkbox"/> 2. Doença de 2 vasos 3. Doença de 3 vasos 4. Sem lesões obstrutivas 8. Sem informação 9. Não se aplica	
198. Doenças em pontes (safena ou mamárias) 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica	199. Doença proximal da descendente anterior 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica	200. Fração de Ejeção: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> %	

<b>XIII – EVENTOS OU MORTE POR DOENÇA CARDIOVASCULAR</b>	
<b>Eventos ou Morte por Doença Cardiovascular</b>	
<b>201. Apresentou eventos cardíovascu- lares ?</b>  1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica	<b>202. Se sim qual (is)?</b>  1. Isquemia silenciosa <input type="checkbox"/> DATA ___/___/___ 2. Angina DATA ___/___/___ 2. Doença arterial coronariana DATA ___/___/___ 3. IAM DATA ___/___/___ 4. Morte súbita DATA ___/___/___ 8. Sem informação 9. Não se aplica
<b>203. Apresentou acidente vascular cerebral (AVC) trombo-embólico ?</b>  1. Sim Data ___/___/___ <input type="checkbox"/> 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica	<b>204. Evoluiu com óbito por doença arterial coronariana (DAC) ou AVC tromboembólico</b>  1. Sim Data ___/___/___ <input type="checkbox"/> 2. Não 8. Sem informação 9. Não se aplica
<b>XIV – SAÍDA DA COORTE</b>	
<b>205. DATA DE SAÍDA DA COORTE</b>  Data da saída da coorte ___/___/___	<b>206. Motivo:</b>  1. Óbito <input type="checkbox"/> 2. Transferência de Serviço 2. Perda 8. Sem informação 9. Não se aplica

Apêndice D – VERSÃO COMPLETA DO ARTIGO 1 EM INGLÊS

SUBMETIDA À REVISTA : *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*

Article 1

TITLE PAGE

## **Polymorphism in region of -675 SERPINE1 gene(PAI-1) and its association with PAI-1 plasma levels and metabolic syndrome in people living with HIV/AIDS in Pernambuco, Brazil**

### **AUTHORS NAMES AND AFFILIATIONS**

Georgge Gomes Oliveira, M.D.,<sup>1</sup> Demócrito de Barros Miranda-Filho, Ph.D.,<sup>2</sup> Gelenske T, M.Sc.,Ph.D.,<sup>3</sup> Francisco Alfredo Bandeira e Farias, M.D., Ph.D.,<sup>4</sup> Heloísa Ramos Lacerda de Melo, M.D., Ph.D.,<sup>5</sup> Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque, M.D., Ph.D.,<sup>6</sup> Ulisses Montarroyos, B.A., M.Sc.,Ph.D.,<sup>2</sup> Ricardo Diaz Sorbie, M.Sc.,Ph.D.,<sup>7</sup> Ricardo Arraes de Alencar Ximenes, M.D., Ph.D.,<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>Department of Mycology of the Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP) Dermatology Service, Coelhos Street, 300 Boa Vista - Recife - PE - Brazil . ZIP CODE 50070-550 . <sup>2</sup>Department of Clinical Medicine , University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil . <sup>3</sup>Residencia of Endocrinology Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP). <sup>4</sup>Endocrinology Service, Hospital Agamenon , SUS / University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil . <sup>5</sup>Postgraduate Tropical Medicine , Department of Tropical Medicine, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil . <sup>6</sup>Centre of Research Aggeu Magalhães, Fiocruz , Recife, Pernambuco, Brazil . <sup>7</sup>Laboratory of Retrovirology UNIFESP- SP.

### **RUNNING TITLE**

SERPINE1 POLYMORPHISM, METABOLIC SYNDROME AND HIV

### **CORRESPONDING AUTHOR**

ADDRESS: Tito Street Rosas, 162, Apt 701, Parnamirim, Recife - PE- cod- ZIP 52060-050

email : [georggego@yahoo.com.br](mailto:georggego@yahoo.com.br)

TELEPHONE NUMBER: +55 081 9 9265-4372 (MOBILE) and +55 081 3034-9158 (RESIDENCE)

**KEYWORDS:** ▪ Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI- 1) ▪ SERPINE1 ▪ Risk of cardiovascular disease ▪ Polymorphism 4G5G ▪ Metabolic syndrome

**WORD COUNT:** 4593

**TOTAL NUMBER OF FIGURES:** 1

**TOTAL NUMBER OF TABLES:** 4

**TOC CATEGORY:** Translational, or clinical and population studies.

**TOC SUBCATEGORY:** Arteriosclerosis, Thrombosis, Vascular Biology, Epidemiology, Infectology HIV, Metabology.

## Polymorphism of -675 Region of Gene *SERPINE1* (*PAI-1*) and its Association with *PAI-1* Plasma Levels and Metabolic Syndrome in People Living with HIV/AIDS in Pernambuco, Brazil

**Objective** – To study the association between *PAI-1* plasma levels, encoded by the polymorphisms of the -675 region of the *SERPINE1* gene, on chromosome 7Q22.1, and the occurrence of metabolic syndrome (MS), and between the *PAI-1* plasma levels and the genotypes of the polymorphism 4G5G.

**Methods and Results** - Cross-sectional study to determine the frequency of the polymorphism 4G5G of *PAI-1* and case-control study to verify associations between polymorphisms and plasma levels of *PAI-1* with MS. The sample of 185 people was randomly selected from a group of 2074 participants in the *AIDS-PE Cohort*. The prevalence of heterozygosity was 86.8%, and of homozygous 4.4% for 4G4G. The mean age was 40.5 (SD  $\pm$ 9.9 years). The median of the activated *PAI-1* was 13.6 ng/mL (IQ: 10.8-17.5). The frequency of MS was 37.9%. We found no association of the polymorphism with the plasma levels of *PAI-1*, nor with MS.

**Conclusions**- In this study, we found a high prevalence of heterozygosity for the polymorphism 4G5G in people living with HIV/AIDS in the northeast of Brazil. We found no association, however, of the polymorphism under study with the plasma levels of activated *PAI-1* or with MS.

After the advent of potent antiretroviral therapy (ART), the improved survival rate of people with HIV has increased the time of exposure to antiretroviral drugs. Various metabolic changes have been observed in individuals, including metabolic syndrome (MS), and these changes have been linked to the chronic infection by HIV and, possibly, to its treatment.<sup>1,2,3</sup>

Gazzaruso *et al.*<sup>6</sup> reported a frequency of 45.4% of MS in people infected with HIV/AIDS submitted to ARV therapy. Jericó *et al.*<sup>7</sup> found a frequency between 17 and 27%, according to the age group. Troian *et al.*<sup>8</sup> found a frequency of MS of 38.2% in users of ART. Studies suggest that in ART, factors related to the HIV infection and individual factors are involved with the development of MS.<sup>2,9</sup>

Metabolic syndrome (MS) is characterized by the concomitant presence of factors that are known to be atherogenic in the same individual.<sup>10</sup> The presence of MS results in a five-fold increase in the risk of occurrence of type 2 diabetes mellitus (DM2) and a two-fold increase in the risk of occurrence of thrombotic cardiovascular disease (CVD), although the hypercoagulability factors are not included in the criteria for the definition of the syndrome.<sup>11</sup>

Several studies have demonstrated that MS is a strong predictor of CVD, especially of the coronary type, regardless of the levels of LDL-cholesterol (LDL-c). In MS, the patient has a proinflammatory state with interference in fibrinolysis.<sup>11</sup>

It is possible that the physiopathology of hypercoagulability in MS involves various mechanisms,<sup>12</sup> among which the increase in the levels of the Plasminogen Activator Inhibitor 1 (*PAI1*) stands out. Some have considered this to lie at the heart of the thrombotic changes in MS<sup>13</sup> since it's the main abnormality involved in the oxidative stress and inflammatory state found in this syndrome. Some studies have demonstrated a higher frequency of CVD in people with MS and increased levels of *PAI-1*.<sup>14,15,16</sup>

Some genes are involved in regulating the levels of *PAI-1*, but only the polymorphisms of region -675, promoter of *PAI-1*, seem to lead to a super-expression of this gene<sup>17,18</sup> and, consequently, to a prothrombotic state. The frequencies of these polymorphisms seem to vary according to the ethnicity and geographic location of a population<sup>20</sup>, which makes the understanding of their occurrence in different populations important.

The insulin resistance, hypercoagulability and continuous state of inflammation that characterize the metabolic syndrome could explain the high frequency of cardiovascular events in the population infected with HIV<sup>13</sup>. It is not known, however, why some people with MS suffer from these events with greater frequency. A hypothesis to be considered is the genetic predisposition acting synergistically with situations that favor the imbalance in the homeostasis of coagulation.

Some studies have evaluated the levels of *PAI-1* and their associations with metabolic disorders in people living with HIV/AIDS.<sup>12,21,22,23,24</sup> Until now, however, we didn't identify any studies on the frequency of the polymorphism 4G/5G in the promoter region of *PAI-1* and its association with MS in the Brazilian population.

This study seeks to determine the frequency of the polymorphism in the promoter of *PAI-1* and its expression in people living with HIV/AIDS, and to verify its association with MS.

## METHODS

### Study Population and Design

This study consisted of two stages. The first step was a cross-sectional design to assess the polymorphism frequency and the association with *PAI-1* plasma levels. In the second step, the case control strategy was used to check the association between the polymorphism and *PAI-1* plasma levels with MS. This study is part of the *AIDS-PE Cohort*, started in July 2007, made up of people living with HIV/AIDS (PLWHA), over 18 years of age, and cared for between 2007 and 2012 in two reference services for the treatment of people living with HIV/AIDS: Hospital Correia Picanço and Hospital Oswaldo Cruz, in Pernambuco - Brazil. People who had diseases related to AIDS in the three months prior to the interviews were excluded.

### Sampling Type and Sample Size Definition

Due to the scarcity of studies involving people living with HIV/AIDS that could help determine the frequency of the polymorphism in the -675 region of the *SERPINE1* gene and its association with *PAI-1* plasma levels and with MS so as to determine the size of the sample, we used studies on the seronegative population for HIV as reference. For the sample of the study on the prevalence, we took the work by Martinez-Calatrava<sup>18</sup> as reference, in which the frequency of the polymorphism 4G/ 4G was 37%. Taking a confidence level of 95% and an expected error of 7% into account, the sample was calculated at 173 individuals. To study the association of the polymorphism and *PAI-1* plasma levels with the metabolic syndrome, in addition to the association of *PAI-1* plasma levels with MS, the sample calculated based on the prevalence study included 65 cases (MS+) and 117 controls (MS-). 182 individuals were randomly selected among the participants of the *AIDS-PE Cohort*.

### Data Collection

After signing the free informed consent form, the participants answered a standardized questionnaire and had their blood pressure and anthropometric measurements taken by trained personnel. Information on ART, diseases related to HIV and CD4 counts were obtained from the medical records and transcribed in specific forms and tracking data collection sheets.

### Collection of Biological Samples

Samples of serum, plasma and whole blood were collected on days 0 and 30 after the patient's admission to the study. Serum and whole blood were stored at -20°C and plasma at -80°C until the time of analysis. The collections were made between 8 and 11am.

### Definition of Variables

MS was considered as the **dependent variable**. It was defined according to the criteria used in *Harmonizing the metabolic syndrome: a Joint Interim Statement (JIS)*<sup>19</sup>, which

considers a case as MS when the individual has 3 or more of the following definition criteria: Abdominal Circumference (CircAbd)  $\geq$  94 cm for men and  $\geq$  80 cm for women; Systolic blood pressure  $\geq$  130mmHg or diastolic blood pressure  $\geq$  85 mmHg or use of oral hypotensive agents; Glycemia  $\geq$ 100 mg/dl or use of hypoglycemic agents; Triglyceridemia  $\geq$ 150 mg/dl or use of hypolipaeamic agents; HDL-cholesterol (HDL-C)  $<$  40 mg/dl in men and  $<$ 50 mg/dl in women.

The following variables were considered as potential confounders: biological variables (gender and age), lifestyle habits (smoking), clinical co-morbidities (hypertension (HAS), obesity and dyslipidemia), laboratorial variables (CT, LDL), variables related to HIV (CD4 count, time elapsed since HIV diagnosis) and related to ART (use of ARV, time of ARV use).

Smoking was categorized as "current use" or as "past use" and "non-use" of tobacco. The BMI was categorized according to the WHO: underweight ( $<$ 18.5 kg/m<sup>2</sup>), normal weight (18.5 to 24.9 kg/m<sup>2</sup>), and overweight ( $>$ 25 kg/m<sup>2</sup>). Hypercholesterolemia was considered when CT  $>$  200 mg/dL or when there was a reported use of hypolipaeamic agents, high LDL if  $>$  130 mg/dL. Dyslipidemia was considered when changes occurred in one of the following parameters: TC, LDL, HDL, TG or use of hypolipaeamic agents. The CD4 count was low when  $<$  350 cells/mm<sup>3</sup>. Time elapsed since HIV diagnosis was referred to by the participant and confirmed in the medical records, categorized as  $<$ 3 years and  $\geq$ 3 years. The ART information was extracted from the medical records. "Use of ART" was considered if on the date of the interview the individual was using antiretroviral drugs. Time of ART was assessed as a continuous variable and categorized as  $<$ 3 years and  $\geq$ 3 years according to the date of the beginning of ART obtained from the medical records.

The CD4 count was performed in a FACS Calibur three color flow cytometer (Becton Dickinson); the biochemical assays, with samples collected after fasting for 12h, were analyzed through the enzymatic method on a Cobas Mira device (Roche), all were submitted to quality management with an acceptable variation of 5% of the mean of the controls. The LDL value was calculated according to the Friedewald equation<sup>25</sup>.

The Polymorphism 4G5G (SNPs rs 1799889) and *PAI-1* plasma levels were considered as the main exposure variables.

To determine the plasminogen plasma levels, the kit ELISA KHC3071 (Human Invitrogen Corporation) was used. Due to the lack of standardization of widely accepted reference values, the plasminogen was analyzed as a continuous variable.

To determine the genotype, the ARMS-PCR (amplification-refractory mutation system - polymerase chain reaction) was used with 2 restriction primers as controls and 2 restriction primers for SNPs rs1799889. The control sequences were 5'-AAGCTTTTACCATGGTAACCCCTGGT-3' and 5'-TGCAGCCAGCCACGTGATTGTCTAG-3', generating an amplicon of 256-pb as internal control and the 5G and 4G allele specific sequences of 5'-AGAGTCTGGACACGTGGGGG-3' e 5'-AGAGTCTGGACACGTGGGGG-3', respectively (138-bp, each). For DNA extraction the MINI SPIN PLUS kit (BIOPUR) was used, with the use of Proteinase K. After DNA extraction, the samples were subjected to DNA dosage with the Nanodrop 2000 device (Thermo Cientific), with acceptance of samples of at least 3 ng/ $\mu$ L. The samples were stored in a microplate free of DNAses and RNAses and frozen at -20°C until execution of the PCR, as described by Bonyadi *et al.*<sup>26</sup>. For confirmation of the PCR findings, 10% of amplified samples were sequenced.

### Statistical Analysis

In order to describe the population, we calculated the frequency distribution and mean with their respective standard deviations. The association of the polymorphism rs1799889 with MS was tested through the Pearson  $\chi^2$  test. To compare the variance of the medians of *PAI-1* plasma levels conditioned to the polymorphism genotypes, we applied the Kruskal-Wallis test, since the distribution was not normal. For all comparisons, a p value  $<$  0.05 was considered as statistically significant. Data was double entered and stored in a unique database, using the SQL Server 2000 (Microsoft) and Genexus (Version 7.5, Artech Consultants) software. The statistical analysis was performed with the Stata 12.0 software.

## RESULTS

Of the 2074 participants in the *AIDS-PE Cohort* eligible for this study, 185 were randomly selected. Of these, 3 were excluded due to the lack of necessary information for the characterization of MS. In the study population, the mean age was  $40.5 \pm 9.5$  years and most people were of the female gender. The mean time elapsed since HIV diagnosis was  $4.6 \pm 4.1$  years, 74.2% of the individuals were undergoing ARV therapy and 68.4% had CD4  $>350$  cells/mm<sup>3</sup>.

MS was found in 37.9% of the individuals under study, being more frequent in women. Table 1 shows the frequency and proportion of variables considered potentially associated with the MS.

Of the 182 study participants, 16 (8.65%) had genotype (5G5G), 161 (87.03%) had an alteration in a single allele (4G5G) and 8 people (4.32%) had mutations in both alleles (4G4G).

We found no differences between genotypes regarding the presence of MS ( $p = 0.662$ ), nor an association between genotype groupings and MS (Table 2).

There was no association between the polymorphism 4G5G in the *PAI-1* -675 promoter region and the defining components of MS (Table 3).

The plasma levels of activated *PAI-1* were slightly different as a function of the polymorphism genotypes 4G5G, with higher medians (Md) for the genotypes with 4G4G (16.5ng/mL, IQ = 10.9-22.9) and 5G4G (13.8ng/mL, IQ = 10.8-17.59) when compared with 5G5G (13.2ng/mL, IQ = 11.6-15.6), although this difference was not statistically significant ( $p = 0.67$ ) (Figure 1).

Table 4 shows the means of activated *PAI-1* according to the presence of MS for each category of the polymorphism 4G5G. There was no statistically significant association between the serum level of activated *PAI-1* and MS ( $p = 0.49$ ).

## DISCUSSION

In this study, the frequency of heterozygosity for the polymorphism 4G5G of *PAI-1* was 86.8%. Although the allelic frequency of 5G was 52.2%, the frequency of homozygous genotypes (13.2 %) was low, especially of the genotype 4G4G, which had a frequency of 4.2%. We found no association between the polymorphism 4G5G and plasma levels of activated *PAI-1*, nor with MS or with its defining components separately. The levels of activated *PAI-1* did not differ between people with and without MS.

The genotype frequency of the polymorphism 4G5G of *PAI-1* had a different distribution than those found in ethnically distinct populations of the Brazilian population. Sakhtehm, *et al.*<sup>27</sup> found a frequency of 44% for 4G and 55% for 5G in Caucasians. He *et al.*<sup>11</sup> described a frequency of 44.3% of allele 4G and 55.7% of allele 5G in Asians.<sup>28</sup> Narah *et al.*<sup>18</sup> found a 4G allele frequency of 13% in native Africans, 54% in Indians and 58% in Caucasians. In our study, the frequency of genotypes 4G4G and 5G5G was lower than that observed in other populations, with the only exception occurring when the comparison is made with the frequency of 4G4G among natives of South Africa. We found a higher frequency of 4G4G than in this specific population group. We believe that the predominance of heterozygosity found in our study may be explained by the historic ethnic miscegenation that occurred in the northeast of Brazil.

We found no association between the polymorphism 4G5G of the *SERPINE1* gene and the activated *PAI-1* plasma levels in people living with HIV/AIDS. In this study, we observed

only the absolute values of serum levels of activated *PAI-1* plasma levels in each genotypic group. We found mild elevations of the medians and higher values as more 4G could be found in the genotype, which is in agreement with the initial research on the association of the polymorphism 4G5G with *PAI-1* plasma levels.<sup>29,30,31,32</sup> Lower values were observed in people with the genotype 5G5G and higher values in people with genotype 4G4G. This behavior was also observed by other authors,<sup>9,33,34,35</sup> but with statistically significant difference between the genotypes and in people not infected with HIV. In other words, our results seem to follow the trend that has already been described in some previous studies, which may suggest that the size of our sample was insufficient to detect this difference. It is also possible that we found no association of *PAI-1* plasma with homozygosity due to the low number for homozygotes that we obtained.

More recent publications suggest that the synthesis of *PAI-1* is influenced by various external factors,<sup>27,34,36,37,38</sup> such as those related to lifestyle. There is also evidence that other polymorphisms besides 4G5G,<sup>33, 29</sup> on the same chromosome, or even on other chromosomes, may be associated with the synthesis of *PAI-1* plasma. De Lange<sup>34</sup> studied the polymorphisms C428T and G429A in the -844 region of chromosome 7, and although he did not find an association with the polymorphism 4G5G (region -675), he did find an association between the synthesis of *PAI-1* and the occurrence of counterparts of the polymorphisms in the region -844 in individuals who had migrated to an urban area and acquired new life habits. Although some studies have demonstrated an association of the genotypes containing 4G with higher levels of plasminogen in people without HIV,<sup>18,26,28,34,39</sup> these findings suggest, therefore, that the association of the polymorphisms with the levels of activated *PAI-1* can be complex, changing over time and under the influence of other factors. As such, the cross-sectional nature of our study may have been a limitation of our work. It would be advisable to carry out other longitudinal studies with repeated dosages over time, in addition to observing other factors that could influence this modulation.

There is evidence that other variables, such as ultra-sensitive C-reactive protein, Interleukins<sup>40</sup>, pre-calcitonin, tissue plasminogen activator and urokinase-type plasminogen<sup>22</sup>, are also associated with the synthesis of *PAI-1* plasma levels, but the study of these variables was beyond the scope of our work.

There is no consensus regarding the normal values of activated *PAI-1*. The reference range in the literature is extensive.<sup>33</sup> The value of activated *PAI-1* found in our study approached the one described in Spanish people living with HIV, with severe immunosuppression and co-infected by the herpes virus or cytomegalovirus (14.6 ng/mL  $\pm$  3.7 ng/mL).<sup>36</sup> Other authors have found higher levels of activated *PAI-1* than our own. In an Italian study conducted with PLWHA using ART, the values found for levels of *PAI-1* were very high when compared to all other published results: 60.9% had levels of *PAI-1* greater than 112 ng/mL.<sup>33</sup> The fact that our population, composed of outpatients, most with CD4 >350/mm<sup>3</sup> and using ART, has values of activated *PAI-1* similar to individuals with advanced disease and CD4 <350/mm<sup>3</sup>, stands out.

ART has significantly increased the survival rate of people living with HIV/AIDS, but it has also been associated with the emergence of metabolic changes in these individuals, such as the development of lipodystrophy and MS.<sup>16,27,41</sup> The influence of medication on the expression of *PAI-1* has already been reported by Yki-Järvinen *et al.* in 2003<sup>24</sup> and was later confirmed by Wang *et al.* in 2008<sup>9</sup>. The first studied lipodystrophy in a group of people living with HIV/AIDS and found that Rosiglitazone promoted the reduction not only of the serum levels of *PAI-1*, but also of the mRNA of *PAI-1* and of liver fat deposits. The latter found a significant reduction ( $p < 0.05$ ) in the expression of *PAI-1* in the group of people using Sinvastatin. Both observations are in agreement with the observation by Hadigan *et al.*<sup>42</sup> (2001), who described the reduction in the expression and concentration of tissue plasminogen activator (tPA), demonstrating a regulation by agents external to human physiology. In turn, Kristoffersen *et al.*<sup>21</sup> did not observe an influence of ART on *PAI-1* levels, even after 14 months of use. Changes in concentration were only observed in the endothelial dysfunction markers: sICAM-1, E-Selectin and PCRus. The influence of ARV on *PAI-1* levels

is therefore unclear. The study of the effect of drugs on *PAI-1* levels was not the object of this work.

In summary, no association was found between the genotypes of the polymorphism 4G5G of the gene *SERPINE1* and the *PAI-1* plasma levels in the population under study. We also observed no association of the polymorphism 4G5G and the *PAI-1* levels with MS. Nevertheless we can assume that the population under study presents both a particular genotypic distribution and a distinct behavior and that the phenotypical expression might be influenced by other factors unrelated to the HIV infection and drugs.

To shed light on these questions, we suggest studies that include the polymorphism of *PAI-1* and other factors that are potentially involved with the expression of *PAI-1*: markers of inflammation and other Proxy polymorphisms. Studies of the prospective cohort type, considering ART regimens, with the observation of stages before and after the introduction of the therapy.

### **Acknowledgments**

Financial Support:

The Brazilian Ministry of Health/ DST/AIDS/UNESCO Program (CSV 185/07 - Project AS 4917/07).

The authors were partially funded by the National Research Council (CNPq) - Scholarship 308590/2013-9 for D.B.M.F., 310911/2009-5 for H.R.L.M., 301779/2009-0 for M.F.P.M., 300917/2006-6 for R.A.A.X.

And, finally, to the Laboratory of Retro-virology of the UNIFESP-SP/Brazil and to the Graduate's Program in Tropical Medicine/ Department of Tropical Medicine/UFPE-PE/Brazil.

## References

1. Hooshyar D, Hanson DL, Wolfe M, Selik Rm, Buskin SE, McNaghten AD. Trends in perimortal conditions and mortality rates among HIV-infected patients. *AIDS*. 2007 Oct 1;21(15):2093-100.
2. Alvarez C, Salazar R, Galindez J, Rangel F, Castaêda ML, Lopardo G, Cuhna CA, Roldan Y, Sussman O, Gutierrez G, Cure-Bolt N, Seas C, Carcamo C, Castrillo M. Metabolic syndrome in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy in Latin America. *Braz J Infect Dis* 2010; 14:256-263.
3. UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2013.
4. Candiani TM, Pinto J, Cardoso CA, Carvalho IR, Dias AC, Carneiro M, Goulart EA. Impact of highly active antiretroviral therapy (HAART) on the incidence of opportunistic infection, hospitalizations and mortality among children and adolescents living with HIV/AIDS in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. *Cad Saude Publica* . 2007;23 Suppl 3:S414-23.
5. Duong M, Buisson M, Cottin Y, Piroth L, Lhuillier I, Grappin M, Chavanet P, Wolff JE, Portier H: Coronary heart disease associated with the use of human immunodeficiency virus (HIV)-1 protease inhibitors: report of four cases and review. *Clin Cardiol* 24:690–694, 2001.
6. Gazzaruso C.; Sacchi P.; Garzaniti A.; Fratino P.; Bruno R.; Filice G. Prevalence of metabolic syndrome among HIV patients. *Diabetes Care*, 25:1253-1254, 2002.
7. Jericó C. Knobel H, Montero M, Ordoñez-Llanos J, Guelar A, Gimeno JL, Saballs P, López-Colomé JL, Pedro-Botet J. Metabolic syndrome among HIV-infected patients. *Diabetes Care*, [s.l.] v.28, p.144-149, 2005.
8. Troian MC, Castilhos Cde, Castilhos Mde, Bialeski N. Prevalência de síndrome metabólica e dislipidemia em pessoas HIV-positivos em uso de terapia anti-retroviral. *Jornal brasileiro de medicina*. 2005; 89(3):31-34.
9. Wang L, Rockwood J, Zak D, Devaraj S, Jialal I. Simvastatin reduces circulating plasminogen activator inhibitor 1 activity in volunteers with the metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord*. 2008 Jun;6(2):149-52. doi: 10.1089/met.2008.0012.]
10. Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C, American Heart Association, National Heart Lung, and Blood Institute. The American Heart Association, the National Heart, Lung, and Blood Institute: Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/ American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* [s.l.] 109:433–438, 2004.

11. He G, Andersen O, Haugaard SB, Lihn AS, Pedersen SB, Madsbad S, Richelsen B. Plasminogen activator inhibitor type 1 (*PAI-1*) in plasma and adipose tissue in HIV-associated lipodystrophy syndrome. Implications of adipokines. *Eur J Clin Invest.* [s.l.] Sep;35(9):583-90, 2005.
12. Anand SS, Yi Q, Gerstein H, Lonn E, Jacobs R, Vuksan V, Teo K, Davis B, Montague P, Yusuf S, Study of Health Assessment and Risk in Ethnic Groups, Study of Health Assessment and Risk Evaluation in Aboriginal Peoples Investigators. Relationship of Metabolic Syndrome and Fibrinolytic Dysfunction to Cardiovascular Disease. *Circulation* 2003;108;420-425. DOI: 10.1161/01.CIR.0000080884.27358.49.
13. Juhan-Vague I, Thompson SG, Jespersen J. Involvement of the hemostatic system in the insulin resistance syndrome. A study of 1500 patients with angina pectoris. The ECAT Angina Pectoris Study Group. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1865–1873.
14. Hamsten A, de Faire U, Waldius G, Dahlén G, Szamosi A, Landou C, Blomback M and Wiman B. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk for recurrent myocardial infarction. *Lancet* [s.l.] (2): 3-9, 1987.
15. Lopes C, Dina C, Durand E, Froguel P. *PAI-1* polymorphisms modulate phenotypes associated with the metabolic syndrome in obese and diabetic Caucasian population. *Diabetologia.* [s.l.] Sep;46(9):1284-90, 2003.
16. Ozel DD, Aktas H, Akar N. The effect of plasminogen activator inhibitor-1 -675 4G/5G polymorphism on *PAI-1* gene expression and adipocyte differentiation. *Clin Appl Thromb Hemost.* [s.l.] Oct;14(4):438-46. Epub 2007 Dec 26, 2008.
17. Martínez-Calatrava MJ, Martínez-Larrad MT, Zabena C, González-Sánchez JL, Fernández-Pérez C, Serrano-Ríos M. The 4G/4G *PAI-1* genotype is associated with elevated plasma *PAI-1* levels regardless of variables of the metabolic syndrome and smoking status. A population-based study in Spanish population. *Diabetes Obes Metab.* [s.l.] Jan;9(1):134-5, 2007.
18. NaraH NH, Chetty N, Crowther NJ. The influence of metabolic syndrome components on plasma *PAI-1* concentrations is modified by the *PAI-1* 4G/5G genotype and ethnicity. *Atherosclerosis.* [s.l.] Jan;196(1):155-63. Epub 2007 Apr 30, 2008.
19. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James Wp, Loria CM, Smith SC Jr, International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; International Association for the Study of Obesity. Harmonizing the Metabolic Syndrome: **A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International**

- Atherosclerosis Society and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120:1640-1645.
20. Van-Vonderen MG, Hassink EA, Van-Agtmael MA, Stehouwer CD, Danner SA, Reiss P, Smulders Y. Increase in carotid artery-media thickness and arterial stiffness but improvement in several markers of endothelial function after initiation of antiretroviral therapy. *J Infect Dis*, [s.l.] Apr 15; 199(8): 1186-94, 2009.
  21. Kristoffersen US, Kofoed K, Kronbong G, Giger AK, Kjaer A, Lebech AM. Reduction in circulating markers of endothelial dysfunction in HIV-infected patients during antiretroviral therapy. *HIV Med* [s.l.] Feb; 10(2):79-87, 2009.
  22. Sporer B, Koedel U, Popp B, Paul R, Pfister HW. Evaluation of cerebrospinal fluid uPA, PAI-1, and soluble uPAR levels in HIV-infected patients. *J Neuroimmunol*. [s.l.] Jun; 163 (1-2): 190-4, 2005.
  23. De Larrañaga G, Galich A, Puga L, Alonso B, Benetucci J. Insulin resistance status is an important determinant of PAI-1 levels in HIV-infected patients, independently of the lipid profile. *J Thromb Haemost*. 2004 Mar;2(3):532-4.
  24. Yki-Järvinen H, Sutinen J, Silveira A, Korshennikova E, Fisher RM, Kannisto K, Ehrenborg E, Eriksson P, Hamsten A. Regulation of plasma PAI-1 concentrations in HAART-associated lipodystrophy during rosiglitazone therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. [s.l.] Apr 1; 23 (4): 688-94, 2003.
  25. Friedewald, WT, Levy R, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge *Clin Chem*, 1972, 18: 499-504.
  26. Bonyadi M, Shaghghi Z, Haghi M, Dastgiri S. Plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphism in Iranian Azeri Turkish patients with FMF disease and its association with amyloidosis. *Eur J Pediatr*. 2013 Jan;172(1):91-8. doi: 10.1007/s00431-012-1844-z. Epub 2012 Oct 5. PMID: 23052617 [PubMed - indexed for MEDLINE]
  27. Sakhteh M, Poopak B, Amirizadeh N, Shamshiri A, Bagheri A, Faranoush M. Polymorphism and synergism of angiotensin-converting enzyme (ACE) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) genes in coronary artery disease. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2014 Dec 12. pii: 1470320314561247. [Epub ahead of print] PMID: 25501306 [PubMed - as supplied by publisher]
  28. Mostafa BH, Mokhtar DA, Badr AM and Gamal el Din NM. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism in hemodialysis patients with cardiovascular disease. *Egyptian Journal of Haematology* 2013, Vol 38 No 1: 1110-1067.
  29. Boekholdt SM, Bijsterveld NR, Moons AH, Levi M, Buller HR, Peters RJ. Genetic variation in coagulation and fibrinolytic proteins and their relation with acute myocardial infarction: a systematic review. *Circulation*. 2001;104:3063–3068.

30. Juhan-Vague I, Pyke SD, Alessi MC, Jespersen J, Haverkate F, Thompson SG. Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris: ECAT Study Group: European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. *Circulation*. 1996;94:2057–2063.
31. Nordt TK, Lohrmann J, Bode C. Regulation of *PAI-1* expression by genetic polymorphism. Impact on atherogenesis. *Thromb Res*. 2001;103 Suppl 1:S1-5.
32. Rallidis LS, Gialeraki A, Merkouri E, Liakos G, Dargès N, Sionis D, *et.al*. Reduced carriership of 4G allele of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism in very young survivors of myocardial infarction. *J Thromb Thrombolysis*. 2010;29(4):497-502.
33. Diamanti-Kandarakis E, Palioniko G, Alexandraki K, Bergiele A, Koutsouba T, Bartzis M. The prevalence of 4G5G polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1 (*PAI-1*) gene in polycystic ovarian syndrome and its association with plasma *PAI-1* levels. *Eur J Endocrinol*. 2004 Jun;150(6):793-8. PMID: 15191349 [PubMed - indexed for MEDLINE]
34. De Lange Z, Rijken DC, Hoekstra T, Conradie KR, Jerling JC, Pieters M. In black South Africans from rural and urban communities, the 4G/5G *PAI-1* polymorphism influences *PAI-1* activity, but not plasma clot lysis time. *PLoS One*. 2013 Dec 30;8(12):e83151. doi: 10.1371/journal.pone.0083151. eCollection 2013. PMID:24386152 [PubMed - indexed for MEDLINE]
35. Lima LM. **Parâmetros bioquímicos, hemostáticos e moleculares em indivíduos submetidos à angiografia coronariana**. 2008. 171 f.: II. TESE DE DOUTORAMENTO – UFMG, Belo Horizonte – MG.
36. Masiá M, Robledano C, Ortiz de la Tabla V, Antequera P, López N, Gutiérrez F. Increased carotid intima-media thickness associated with antibody responses to varicella-zoster virus and cytomegalovirus in HIV-infected patients. *PLoS One*. 2013 May 23;8(5):e64327. doi: 10.1371/journal.pone.0064327. Print 2013. PMID: 23717597 [PubMed - indexed for MEDLINE]
37. Romagnuolo R, Marcovina SM, Boffa MB, Koschinsky ML. Inhibition of plasminogen activation by apo(a): role of carboxyl-terminal lysines and identification of inhibitory domains in apo(a). *J Lipid Res*. 2014 Apr; 55(4):625-34. Doi: 10.1194/jlr.M036566.
38. Padilla S, Masiá M, García N, Jarrin I, Tormo C, Gutiérrez F. Early changes in Inflammatory and pro-thrombotic biomarkers in patients initiating antiretroviral therapy with Abacavir or Tenofovir. *BMC Infectious Diseases* 2011, 11:40 Doi:10.1186/1471-2334-11-40.
39. Tofler GH; Massaro J; O'Donnell CJ; Peter W Wilson; Vasan RS; Sutherland PA; Lipinska I; Meigs JB; Levy D; D'Agostino RB. Plasminogen Activator Inhibitor (*PAI-1*)

- and Risk of Cardiovascular Disease: The Framingham Heart Study. *Circulation*. 2009;120:S454.
40. De Luca A, De Gaetano Donati K, Colafigli M, Cozzi-Lepri A, De Curtis A, Gori A, Sighinolfi L, Giacometti A, Capobianchi MR, D'Avino A, Iacoviello L, Cauda R, D'Arminio Monforte A. The association of high-sensitivity c-reactive protein and other biomarkers with cardiovascular disease in patients treated for HIV: a nested case-control study. *BMC Infect Dis*. 2013 Sep 3;13:414. doi: 10.1186/1471-2334-13-414.
41. Caron M, Vigouroux C, Bastard JP, Capeau J. Antiretroviral-related adipocyte dysfunction and lipodystrophy in HIV-infected patients: Alteration of the PPAR $\gamma$ -dependent pathways. *PPAR Res* 2009; 2009:507141
42. Hadigan C, Meigs JB, Rabe J, D'Agostino RB, Wilson PW, Lipinska I, Tofler GH, Grinspoon SS; Framingham Heart Study. Increased *PAI-1* and tPA antigen levels are reduced with metformin therapy in HIV-infected patients with fat redistribution and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. [s.l.] Feb; 86(2): 939-43, 2001.

**TABLE 1 – Clinical and laboratory characteristics of study population according to the presence of MS**

Variables	All	MS+	MS-	$\rho$
Sample size (N)	182	69 (37,9%)	113 (62,1)	-
Age (years)*	40,5 ± 9,5	44,5 ± 8,9	38,1 ± 9,1	<0,001
Female gender (%)**	133 (73,5%)	58 (84,1%)	75 (66,4%)	0,009
BMI (kg/m <sup>2</sup> )*	24,7 ± 5,2	27,3 ± 5,1	23,1 ± 4,6	<0,001
Smoking (%)**	30 (16,5%)	9 (13%)	21 (18,6%)	0,328
Total Cholesterol (mg/dL)*	185,8 ± 49,3	187,1 ± 54,1	184,9 ± 53,1	0,794
LDL Cholesterol (mg/dL)*	103,2 ± 56,6	107,4 ± 67,8	101,0 ± 49,4	0,47
CD4 ≤ 200/mm <sup>3</sup> (%)**	24 (13,4%)	7 (10,3%)	17 (15,3%)	0,339
CD4 ≤ 350/mm <sup>3</sup> (%)**	71 (31,6%)	22 (32,3%)	49 (44,1%)	0,118
Time since HIV diagnosis (years)*	4,6 ± 4,1	5,33 ± 3,9	4,24 ± 4,2	0,086
Using ART (%)**	135 (74,2%)	54 (78,3%)	81 (71,7%)	0,325
Time on HAART (year)*	4,2 ± 3,3	4,67 ± 3,4	3,94 ± 3,1	0,199
Dyslipidemia (%)**	150 (82,4%)	67 (97,1%)	83 (73,4%)	<0,001
<i>Activated PAI-1</i> ***	13,6 (10,8-17,5)	13,5 (10,2-17,2)	13,8 (11,0-18,7)	0,397

\* Mean and Standard Deviation

\*\* N and percentage

\*\*\* Median and interquartile range

MS: Metabolic syndrome; BMI: Body mass index; LDL: Low density lipoprotein; HIV: Human immunodeficiency virus; ART: Antiretroviral therapy; PAI-1: Plasminogen activator inhibitor-1.

**TABLE 2** –SNPs rs1799889 frequency and allele distribution in people living with HIV according to the presence of MS

<b>Genotypes</b>	<b>All</b>	<b>MS+ (N=69)</b> <b>N(%)</b>	<b>MS- (N=118)</b> <b>N(%)</b>	<b><i>p</i></b>
Polymorphism 5G5G	16 (8,8%)	7 (10,1)	9 (8,0)	
Polymorphism 4G5G	158 (86,8%)	58 (84,1)	100 (88,5)	0,662
Polymorphism 4G4G	8 (4,4%)	4 (5,8)	4 (3,5)	
<b>Total</b>	<b>182</b>	<b>69</b>	<b>118</b>	
<b>Genotypes groups</b>				
Polymorphism 5G5G		7 (10,1)	9 (8,0)	
Polymorphism 4G5G/ 4G4G †		62 (89,9)	104 (92)	0,614
<b>Total</b>		<b>69</b>	<b>113</b>	
<b>Allele distribution</b>				
5G		72 (52,2)	118 (52,3)	
4G		66 (47,8)	108 (47,7)	
<b>Total</b>		<b>138 (100)</b>	<b>226 (100)</b>	

† Clustering of genotypes with at least one allele 4G

SNP: single nucleotide polymorphism; MS: Metabolic syndrome.

**TABLE 3** – Biological, clinical, lifestyle and metabolic indicators related to HIV and ART, according to 4G5G polymorphism of PAI-1 in people living with HIV.

Variables	5G5G	4G5G/4G4G	$\rho$
Sample size (N=182)	16	166	-
<b>BIOLOGICAL VARIABLES</b>			
Age (years)*	41,8 ± 7,8	40,4 ± 9,6	0,568
Female gender**	11 (68,7%)	125 (74,0%)	0,651
<b>ANTROPOMETRICS VARIABLES</b>			
BMI (kg/m <sup>2</sup> )*	25,4 ± 4,3	24,7 ± 5,3	0,617
Waist (cm) ♀*	87,3 ± 7,9	86,2 ± 11,7	0,776
Waist (cm) ♂*	88,7 ± 9,4	85,1 ± 10,9	0,480
SBP **	124,7 ± 19,3	118,1 ± 18,1	0,173
DBP **	81,7 ± 14,7	80,5 ± 12,8	0,721
Dyslipidemia **	14 (87,5%)	136 (81,9%)	0,576
<b>LIFESTYLE VARIABLES</b>			
smoking **	2 (12,5%)	29 (17,2%)	0,633
<b>OTHER METABOLICS INDICATORS</b>			
Total Cholesterol (mg/dL)*	207,3 ± 67,7	183,7 ± 51,2	0,098
LDL Cholesterol (mg/dL)*	120,2 ± 72,2	101,5 ± 54,8	0,211
HDL Cholesterol (mg/dL), ♀ ***	45 (38 - 45)	40,4 (35 - 51)	0,647
HDL Cholesterol (mg/dL), ♂ ***	39,5 (37 - 54,3)	38,5 (34 - 47)	0,574
Triglycerides (mg/dL)***	150 (102 - 168)	137 (91 - 215)	0,931
Fasting glycemia (mg/dL)***	89 (84 - 93)	88 (82 - 96)	0,827
Activated PAI-1 (ng/mL)***	13,2 (11,6 – 15,6)	13,8 (10,8 – 17,9)	0,697
<b>HIV-RELATED VARIABLES</b>			
CD4 ≤ 200/mm <sup>3</sup> **	4 (25,0%)	20 (12,0%)	0,144
CD4 ≤ 350/mm <sup>3</sup> **	6 (37,5%)	66 (39,8%)	0,86
Time since HIV diagnosis (years)*	3,96 ± 3,2	4,71 ± 4,2	0,482
<b>ART- RELATED VARIABLES</b>			
Using ART **	12 (75%)	126 (74,6%)	0,969
Time on HAART (years)*	4,04 ± 3,6	4,25 ± 3,2	0,823

\* Mean and Standard Deviation

\*\* N and percentage

\*\*\* Median and interquartile range

HIV: Human immunodeficiency virus; ART: Antiretroviral therapy; PAI-1: Plasminogen activator inhibitor-1; BMI: Body mass index; SBP: Systolic blood pressure; DBP: Diastolic blood pressure; LDL: Low density lipoprotein; HDL: High density lipoprotein.

**TABLE 4** – Plasmatic PAI-1 level according to the presence of MS in people living with HIV.

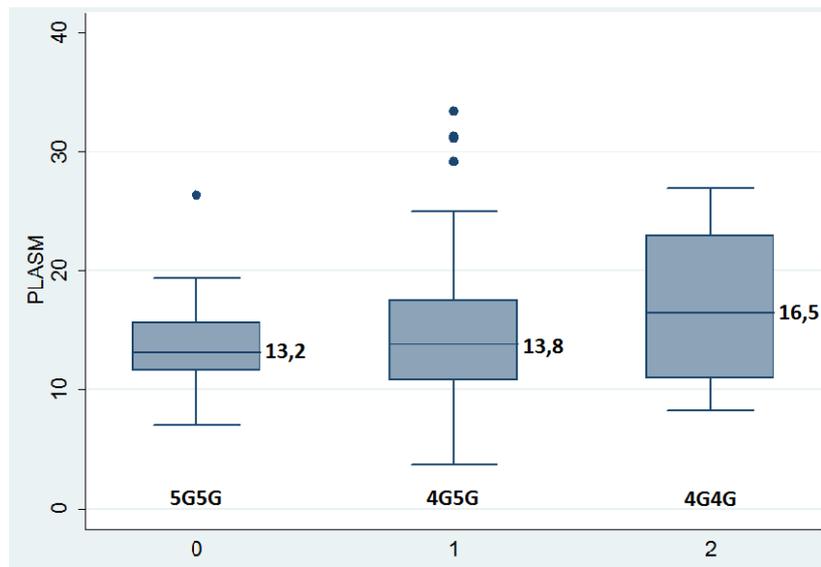
	<b>MS -</b>	<b>MS +</b>	<b>p</b>
N=182	117 (64%)	65 (36%)	
<b>PAI-1 (ng/mL)</b>	13,5 (10,2 -17,1)	13,8 (11,0 – 18,7)	0,48 ‡
<b>PAI-1 (ng/mL) in 4G4G/4G5G genotypes</b>	13,4 (10,2 - 17,2)	14,7 (10,8 - 19,0)	0,34 †
<b>PAI-1 (ng/mL) in 5G5G genotype</b>	14,1 (11,7 - 15,8)	12,7 (11,5-14,7)	0,49 †

Plasmatic PAI-1 level showed in median (interquartile range)

(†) = Comparison of plasmatic PAI-1 medians for the same genotype among people with and without MS

(‡) = Comparison of plasmatic PAI-1 medians among people with and without MS.

MS: metabolic syndrome; PAI-1: Plasminogen activator inhibitor-1.



**Figure 1:** Box plot with median, interquartile range and confidence interval of 95 % of PAI- 1 levels enabled according to the PAI-1 genotypes in people living with HIV / AIDS. (PLASM = PAI-1 activated in ng/mL; 0 = Genotype 5G5G; 1 = 4G5G genotype; 2 = 4G4G genotype)

Apêndice E – VERSÃO COMPLETA DO ARTIGO 2 EM INGLÊS

SUBMETIDA À REVISTA : *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*

**Article 2**

## TITLE PAGE

**Association of polymorphism in the region of -675 SERPINE1 gene and PAI-1 levels enabled with cardiovascular risk factors in people living with HIV/AIDS in Pernambuco, Brazil.**

## AUTHORS NAMES AND AFFILIATIONS

Georgge Gomes Oliveira, M.D.,<sup>1</sup> Demócrito de Barros Miranda-Filho, Ph.D.,<sup>2</sup> Gelenske T, M.Sc.,Ph.D.,<sup>3</sup> Francisco Alfredo Bandeira e Farias, M.D., Ph.D.,<sup>4</sup> Heloísa Ramos Lacerda de Melo, M.D., Ph.D.,<sup>5</sup> Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque, M.D., Ph.D.,<sup>6</sup> Ulisses Montarroyos, B.A., M.Sc.,Ph.D.,<sup>2</sup> Ricardo Diaz Sorbie, M.Sc.,Ph.D.,<sup>7</sup> Ricardo Arraes de Alencar Ximenes, M.D., Ph.D.,<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>Department of Mycology of the Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP) Dermatology Service, Coelho Street, 300 Boa Vista - Recife - PE - Brazil . ZIP CODE 50070-550 . <sup>2</sup>Department of Clinical Medicine , University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil . <sup>3</sup>Residência of Endocrinology Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP). <sup>4</sup>Endocrinology Service, Hospital Agamenon , SUS / University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil . <sup>5</sup>Postgraduate Tropical Medicine , Department of Tropical Medicine, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil . <sup>6</sup>Centre of Research Aggeu Magalhães, Fiocruz , Recife, Pernambuco, Brazil . <sup>7</sup>Laboratory of Retrovirology UNIFESP- SP.

**RUNNING TITLE**

SERPINE1 POLYMORPHISM, CARDIOVASCULAR RISK AND HIV

**CORRESPONDING AUTHORS**

ADRESS: Tito Rosas Street, 162, Apt 701, Parnamirim, Recife - PE- cod- ZIP 52.060-050  
email : [georggego@yahoo.com.br](mailto:georggego@yahoo.com.br)  
TELEPHONE NUMBER: +55 081 9 9265-4372 (MOBILE) and +55 081 3034-9158

**KEYWORDS:** ▪ Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI- 1) ▪ SERPINE1 ▪ Risk of cardiovascular disease ▪ Polymorphism 4G5G ▪ Metabolic syndrome ▪ Framingham

**WORD COUNT:** 4380

**TOTAL NUMBER OF FIGURES:** 0

**TOTAL NUMBER OF TABLES:** 4

**TOC CATEGORY:** Translational, or clinical and population studies.

**TOC SUBCATEGORY:** Arteriosclerosis, Thrombosis, Vascular Biology, Epidemiology, Infectology HIV, Metabology.

### Association of the Polymorphism of the -675 Region of the Gene *SERPINE1* (*PAI-1*) and the Activated *PAI-1* Levels with the Cardiovascular Risk in People Living with HIV/AIDS in Pernambuco - Brazil

**Objective** – To study the association of the polymorphism of the region -675 of the gene *SERPINE1* (*PAI-1*) and the plasminogen plasma levels (*PAI-1*) with the cardiovascular risk estimated by the *Framingham* score, and with traditional risk factors for cardiovascular disease in people infected with HIV.

**Methods and Results:** Cross-sectional study in a sample of 162 people randomly selected from the *AIDS-PE Cohort*. Of these, 72.8% were women and the mean age was 40 years. The frequency of estimated cardiovascular risk > 10% was 10.5%. The allele 4G was present in 90.7% of people (genotypes 4G4G and 4G5G). There was no association between polymorphism and estimated RCVD > 10% (OR= 0.6; CI95% 0.1 - 3.7), neither was there a difference in the *PAI-1* levels in relation to estimated cardiovascular risk (risk >10%: 14,6ng/ml, risk<10%: 14,1ng/ml;  $p=0,9$ ). Hypercholesterolemia was associated with genotype 5G5G and with higher plasma levels of *PAI-1* (15.6ng/ml for non-HDL cholesterol >130mg/dl and 13.8ng/ml for non-HDL cholesterol <130 ng/ml;  $p = 0.04$ ).

**Conclusion** - In this study, no association was found between the polymorphism 4G5G of the gene *SERPINE1*, nor of the plasma levels of *PAI-1*, with CVR>10% according to the *Framingham* score, but we did find an association with hypercholesterolemia, contrary to expectations.

After the introduction of antiretroviral therapy (ART), there has been an increase in life expectancy of people with HIV and, consequently, a prolonged exposure to antiretroviral drugs.<sup>1</sup> On the other hand, ART still isn't capable of eradicating HIV, and people infected with HIV are being chronically exposed to inflammatory cytokines, related both to the infection and to the response to the ART.<sup>2</sup> These changes, in conjunction with the aging of people, have been reflected in a significant shift in the epidemiological profile of the population. A reduction in mortality as a result of causes related to AIDS, and an increase in mortality due to events not related to AIDS, can be observed<sup>3</sup>. Among the diseases not related to AIDS, cardiovascular diseases (CVD) are stand out because of their high frequency.<sup>4</sup>

A commonly used way to estimate the risk of cardiovascular events is the use of equations that combine multiple risk factors and provide a quantitative estimate of the risk of CVD in a given period of time. The *Framingham* score is one of these equations that has been widely used in the general population<sup>5</sup>, and more recently in people infected with HIV.<sup>6,7</sup>

The pathogenesis of cardiovascular events in this population is complex, since it involves inflammatory factors related to the infection that are maintained even with the control of the infection after the start of ART.<sup>2</sup> There is the participation of traditional risk factors related to aging and metabolic complications triggered by the ART.<sup>8,9</sup> This inflammatory state seems to promote endothelial dysfunction, coagulation and fibrinolysis disorders, which are the first changes of the atherosclerotic disease.<sup>10</sup>

Among the endothelial cytokines, *PAI-1* is the main inhibiting factor of fibrinolysis<sup>11</sup> and dysfunctions associated to this cytokine have been associated with cardiovascular disease.<sup>12</sup> The plasma levels of *PAI-1* may be influenced by such factors as age, gender, obesity, smoking, and genetic polymorphisms.<sup>13</sup> The most well-studied polymorphism is 4G5G, which is the insertion or deletion of a nucleotide in the promoter region of the *SERPINE1* gene. There have been reports that the presence of allele 4G implies higher levels of *PAI-1*<sup>14</sup> and that it is possibly associated with CVD.<sup>15</sup> These associations have been more studied in people without HIV.<sup>14,15</sup> In people living with HIV/AIDS, some authors have found higher levels of *PAI-1* in this population than in people without HIV.<sup>16,17</sup> There is disagreement regarding the association of high levels of *PAI-1* and the risk factors for CVD.<sup>18,19</sup> Little is known about the participation of the polymorphism 4G5G in the cardiovascular risk of people infected with HIV.

This study aims to verify if the polymorphism 4G5G of *PAI-1* and the plasma levels of activated *PAI-1* are associated with a higher estimated risk for cardiovascular events, and with the components used to estimate the risk according to the Framingham score.

## METHODS

### Study Population and Design

We used a case-control strategy to study the association of the polymorphism and plasma levels of activated *PAI-1* with cardiovascular risk.

This study is part of the *AIDS-PE Cohort*, which started in July 2007 consisting of more than 2074 people infected with HIV in the outpatient care of two reference centers for HIV in the state of Pernambuco, Brazil.

People living with HIV/AIDS, with 18 years of age or more, serviced in an outpatient clinic between 2007 and 2012, were included in the study. People who had diseases related to AIDS in the three months prior to the interviews, were excluded.

Due to the scarcity of studies involving people living with HIV/AIDS that can help determine the frequency of the polymorphism in the -675 promoter region *PAI1* and its association with activated *PAI-1* levels as well as with the risk of CVD, this research used studies on the seronegative population for HIV as reference to determine the sample size.

The sample of the study on the prevalence of the polymorphism was estimated based on the work by *Martinez-Calatrava*<sup>20</sup>, in which the frequency of the polymorphism 4G/ 4G was 37%. Taking a confidence level of 95% and an expected error of 7% into account, the estimated sample was of 173 people. Among these, those with high cardiovascular risk (cases) and with low cardiovascular risk (controls), were identified.

The study population was randomly selected among the participants of the *AIDS-PE Cohort*.

### Data Collection

After signing the free informed consent form, the participants answered a standardized questionnaire and had their blood pressure and anthropometric

measurements taken by trained personnel. Information on ART, diseases related to HIV and CD4 counts were obtained from the medical records and transcribed in specific forms.

### **Serum and plasma assays and study of polymorphisms**

Samples of serum, plasma and whole blood were collected on days 0 and 30 after the patient's admission to the study. Serum and whole blood were stored at -20°C and plasma at -80°C until the time of analysis. The collections were made between 8 and 11am. The plasma was used for the determination of *PAI-1*, the serum was used for measuring total cholesterol (CHOL), high-density lipoprotein cholesterol (HDL), glycemia (GJ), and triglycerides (TG). Whole blood was used for the CD4 count and to obtain the DNA for determination of the polymorphism.

The CD4 count was performed in a FACS Calibur three color flow cytometer (Becton Dickinson); the biochemical assays, with samples collected after fasting for 12h, were analyzed through the enzymatic method on a Cobas Mira device (Roche), all were submitted to quality management with an acceptable variation of 5% of the mean of the controls. The LDL value was calculated according to the Friedewald equation<sup>19</sup>.

To determine the plasminogen plasma levels, the kit KHC3071 (Human Invitrogen Corporation) was used. To determine the polymorphisms, DNA was extracted with the MINI SPIN PLUS kit (BIOPUR), employing Proteinase K. Afterwards, each extract was subjected to determination of DNA by  $\mu\text{L}$  in a Nanodrop 2000 device (Thermo Scientific), with acceptance of extracts containing a minimum of 3 ng/ $\mu\text{L}$ . The extracts were stored in a microplate free of DNases and RNases and frozen at -20°C until execution of the polymerase chain reaction (PCR) at the Center of Genomes of UNIFESP-SP, Brazil, according to the protocol described by Bonyadi *et al.*<sup>19</sup>, with gene sequencing of 10% of the amplified samples for confirmation of the findings in the PCR. The detection of the polymorphisms in the promoter region -675 4G5G of *PAI-1* was performed using the prime 5'-AAGCTTTTACCATGGTAACCCCTGGT-3' as control, 5'-TGCAGCCAGCCACGTGATTGTCTAG-3' as common prime (256-bp) and 5'-AGAGTCTGGACACGTGGGGG-3' and 5'-AGAGTCTGGACACGTGGGGG-3' for the specific alleles 5G and 4G, respectively (138-bp, each).

### **Definition of terms**

#### DEPENDENT VARIABLE

#### **Estimated Risk of Cardiovascular Diseases (RCVD)**

In order to estimate the risk of cardiovascular diseases, the *Framingham* score was employed (Annex C). This model estimates the chance, in percentage, of an individual having a cardiovascular event in the period of ten years. Individuals are stratified as low risk (<10%), moderate risk (10 to 20%) and high risk (> 20%). In this study, we grouped people into two categories: Low risk (<10%) and high risk (>10%), merging the moderate and high-risk individuals in a single category.

#### **Other Cardiovascular Risk Factors**

In addition to the risk of CVD estimated through the *Framingham* score, the following risk factors for cardiovascular disease were analyzed separately:

- **Clinical Comorbidities:** hypertension (HAS), diabetes mellitus (DM), excess weight and dyslipidemia;
- **Lipid profile:** TG, LDL, TG, HDL, TG/HDL ratio, Non HDL Cholesterol.

Hypertension was defined as systolic blood pressure (SBP) >130 mmHg or diastolic blood pressure (DBP) >85 mmHg, or use of antihypertensive medication at the time of entering the study. Fasting glucose >125 mg/dL, or use of oral hypoglycemic agents at the time of entering the study was categorized as diabetes (DM). The individuals were classified according to their body mass index (BMI) as: underweight (<18.5 kg/m<sup>2</sup>), normal weight (18.5 to 24.9kg/m<sup>2</sup>), and overweight (≥25kg/m<sup>2</sup>), grouping overweight (25 to 29.9kg/m<sup>2</sup>) and obese (≥30kg/m<sup>2</sup>) people in a single category. Hypercholesterolemia was defined as CT > 200mg/dL or when hypolipaeamic agents were used, high LDL when > 130mg/dL. "Non-HDL Cholesterol" was calculated by subtracting the value of HDL-cholesterol (HDL) from the CT value, with values above 160mg/dL being considered high. The TG/HDL ratio was used as a marker of cardiovascular risk related to an unfavorable lipid profile, which was considered abnormal when greater than or equal to 3.8. Dyslipidemia was considered if at least one of the following parameters were changed: TC, LDL, HDL, TG or use of hypolipaeamic agents.

## EXPOSURE VARIABLES

The **polymorphism in the -675 promoter region of the plasminogen activator inhibitor 1 (*PAI-1*)** is caused by the replacement or absence of a guanine in *loci* -675 of the promoter gene of *PAI-1*. The wild genotype is 5G5G; the heterozygosity for the polymorphism is defined by replacement of a base in a single allele, characterizing the genotype 4G5G; the homozygous for the polymorphism is defined by replacement of the base in two alleles, characterizing the genotype 4G4G. In our study, the genotypes 4G4G and 4G5G were grouped in a single category.

Due to the lack of standardization of widely accepted reference values, the **plasminogen** was analyzed as a continuous variable. It was also analyzed categorically, grouped into quartiles, according to the distribution found in the sample.

## VARIABLES CONSIDERED FOR THE FINAL FIT OF THE MODEL.

The following variables were considered for adjustments of the multivariate model: biological variables (gender and age), lifestyle habits (smoking), variables related to HIV (CD4 count, time elapsed since HIV diagnosis) and related to AVT (use of ARV, time of ARV use).

Smoking was categorized as "current use" and as "past use" and "non-use". For the CD4 count, two cut-off points were considered: <350 cells/mm<sup>3</sup> and <200 cells/mm<sup>3</sup>. Time elapsed since HIV diagnosis was referred to by the participant and confirmed in the medical records. The ART information was extracted from the medical records. "Use of ART" was considered if on the date of the interview the individual was using antiretroviral drugs. Time of ART was assessed as a continuous variable according to the date of the beginning of ART obtained from the medical records.

## Data analysis

In order to describe the population, we calculated the frequency distribution and mean with their respective standard deviations. The Student's t test was employed to compare the means. The association of the polymorphism of activated *PAI-1* with the risk of CVD and other cardiovascular risk factors was tested with the  $\chi^2$  Pearson test. The measure of association of parametric variables was estimated by the odds ratio with the respective confidence intervals.

Data was double entered and stored in a unique database, using the SQL Server 2000 (Microsoft) and Genexus (Version 7.5, Artech Consultants) software. The statistical analysis was performed with the Stata 12.0 software. For all comparisons, a p value < 0.05 was considered as statistically significant.

## RESULTS

Of the 2074 participants in the AIDS-PE cohort eligible for this study, 185 were randomly selected. Of these, 23 did not have all the information for quantifying the risk of CVD through the *Framingham* score and were excluded, totaling 162 participants.

Table 1 shows the means and frequencies of the variables under study in the general population and in the population with low and high risk of CVD. The mean age was approximately 40 years and most people were of the female gender. Almost 40% of participants had hypertension, almost half had excess weight and 80% had dyslipidemia. As to the infection, the majority was using ARV and 60% had CD4 > 350 cells/cm<sup>3</sup>. The mean time elapsed since HIV diagnosis and ARV use were superior to four years.

The frequency of the polymorphism 4G5G of *PAI-1* found in this study is shown in Table 2.

The mean of the activated *PAI-1* was 14.4ng/mL ( $\pm$  5.5ng/mL). The highest levels were found in people with the polymorphism 4G4G and high risk of CVD. There was no statistically significant difference between the levels of activated *PAI-1* of people with low and high risk of CVD in the different categories of polymorphism, as shown in table 2.

We found no association between the presence of the polymorphism 4G4G/ 4G5G and a high risk of CVD, neither in the univariate analysis ( $OR=0,7$ ;  $IC95\%=0,1$  a  $3,6$ ;  $\rho=0,7$ ), nor after adjustment for age and gender (Table 3).

When we evaluated the association of the polymorphism 4G5G of *PAI-1* with the traditional risk factors for CVD, we found a higher frequency of people with elevated CT as well as Non-HDL cholesterol among those with genotype 5G5G (Table 3). We found no association of the polymorphism with the other variables under study.

The activated *PAI-1* levels were higher among people with CT above 130 mg/dL and non-HDL CT above 160 mg/dL (Table 3). There was no difference between the means of activated *PAI-1* for the remaining risk factors analyzed (Table 4).

## DISCUSSION

This study's main objective was to assess the association of the polymorphism of the gene *SERPINE1* and the plasma levels of *PAI-1* with the estimated

cardiovascular risk and the traditional risk factors in people infected with HIV. We found no associations with the estimated risk for CVD. Among the traditional risk factors for CVD, hypercholesterolemia was associated with higher levels of activated *PAI-1*, and with the genotype 5G5G of the polymorphism of region -675 of the gene of *PAI-1*.

The use of endothelial prothrombotic biomarkers to estimate cardiovascular events is still controversial in people infected with HIV. This study found no association between plasma levels of activated *PAI-1* and cardiovascular risk estimated through the *Framingham* score. Similarly, some authors found no association between levels of *PAI-1* and subclinical atherosclerotic disease<sup>15</sup> or major cardiovascular events<sup>21</sup> in people infected with HIV. Other authors, on the other hand, have demonstrated that among people living with HIV/AIDS who had a first myocardial infarction (MI), the plasma levels of *PAI-1* were higher in the 12 months before the development of the outcome when compared with individuals who did not have MI<sup>22</sup>.

There also was no association between the polymorphism 4G5G of *PAI-1* and the cardiovascular risk estimated through the *Framingham* score. In people living with HIV/AIDS, few studies have assessed the polymorphism 4G5G of *PAI-1*<sup>23</sup> and none evaluated the association of this polymorphism with CVD. In people without HIV, the involvement of the polymorphism of *PAI-1* in the onset of cardiovascular events still isn't clear. Most studies show that the polymorphism of this region is associated with the plasma levels of *PAI-1*,<sup>24,25</sup> but the results are more conflicting when the association with cardiovascular events is concerned. FOX, *et al.*<sup>26</sup> found no association between the polymorphism 4G5G of *PAI-1* and the carotid intima-media thickness in 1778 people participating of the *Framingham offspring cohort*. In Brazil, Lima *et al.*<sup>15</sup> identified an association of the polymorphism 4G5G of *PAI-1* and severe atherosclerotic disease, with a higher frequency of the genotype 4G4G in people with severe atherosclerosis of the coronary arteries as identified by angiography. In a meta-analysis performed on a Chinese population not infected with the HIV virus, an association of the polymorphism 4G5G with the risk for CVD was found.<sup>27</sup> In our study, most of the participants had at least one 4G allele. The low frequency of 5G5G homozygosity was unexpected, since the literature describes variations between 20% and 50% in populations of different ethnic groups.<sup>28</sup> In addition, there was no difference in plasma levels of *PAI-1* between the different genotypes of the polymorphism. This may be part of the explanation for the findings.

It is important to emphasize that this study did not evaluate major cardiovascular events or sub-clinical atherosclerotic disease, but instead the estimated risk for such events in 10 years according to the *Framingham* score. Guzman-Fulgencio *et al.* also found no association between levels of *PAI-1* and the risk for CVD in 10 years according to the *Framingham* score. These authors described *PAI-1* means (13.5 ng/ml) in people infected with HIV close to the values that we found, which are lower than those reported by the study of Lima *et al.*<sup>15</sup>, who found an association with the cardiovascular event as outcome (>35 ng/mL in all groups).

Among the traditional risk factors for cardiovascular disease evaluated in this study, only hypercholesterolemia was associated with higher levels of *PAI-1*. An unexpected finding of our study was that people without the 4G allele had a greater chance of having high cholesterol, since this allele has been implicated in an unfavorable metabolic profile. Studies of this type involving people living with HIV/AIDS are rare. In people not infected with HIV, studies about the association between the polymorphism 4G5G and RCVD show conflicting results<sup>24</sup> and in people with HIV they are still scarce. An association was found between the polymorphism

4G and hypercholesterolemia (but not with hypertriglyceridemia) differing from the study of Kim *et al.*<sup>29</sup> who found no association between the polymorphism and dyslipidemia. These same authors showed a greater chance of HAS in people with allele 4G of the polymorphism, with an OR of 1.6 for genotype 4G5G and 1.7 for genotype 4G4G. Similar data were described by a Spanish study in men, which found an OR of 1.89 for HAS among carriers of allele 4G. We did not find any association of the polymorphism with hypertension. A recent meta-analysis on the polymorphisms involved in fibrinolysis, described that other polymorphisms near the 4G5G region of chromosome 7q22.1, in addition to polymorphisms in other genes than those of chromosome 7 and its polymorphic variants, are involved in the association between values of *PAI-1* and cardiovascular risk factors<sup>14</sup>.

One of the limitations of this study was that it evaluated the estimated risk of cardiovascular disease in people infected with HIV through an equation that does not take into account risk factors that are specifically associated with HIV, mainly the use of ARV and the immunological status. This could make the *Framingham* score inappropriate for this population. This tool, however, has been widely used in different populations. Specific equations exist for people infected with HIV, but they take the use of drugs into account that are not frequently used in our environment. In a recent study conducted in the Brazilian population, including people of the "*AIDS-PE Cohort*", no association was found of factors related to HIV with a high estimated cardiovascular risk score.<sup>30</sup> In addition, it has already been demonstrated that a CVR estimated by the *Framingham* score above 10% in 10 years is associated with sub-clinical atherosclerosis assessed by carotid artery intima-media thickening in a study conducted with people of the "*AIDS-PE Cohort*", suggesting that the *Framingham* score can be a good predictor of CVD in this population.<sup>31</sup>

Another limitation that must be taken into account was the small number of people with the genotype 5G5G. This was an unexpected finding and may have reduced the power of this study to find the associations under study.

In conclusion, we found no association of the polymorphism 4G5G of *PAI-1* and the plasma levels of *PAI-1* with the cardiovascular risk estimated by the *Framingham* score for people infected with HIV. We did find an association, however, of hypercholesterolemia with higher plasma levels of *PAI-1*, as expected. The high frequency of dyslipidemia in people with HIV found in this study and others<sup>9,32,33</sup> and the well-documented association of hypercholesterolemia and cardiovascular disease in people without<sup>34</sup> and with HIV,<sup>35</sup> points to the use of this parameter as an important marker in the prediction of cardiovascular risk in this population. We also found an association of hipercoelesterolemia with the genotype 5G5G, differently than we expected.

The identification of biomarkers associated with the increased risk of morbidity in specific populations can be very useful, but before they can be used in clinical practice the results of various studies must converge. Based on this study, *PAI-1* and the polymorphism 4G5G of *PAI-1* are not good biomarkers to identify people infected with HIV with high cardiovascular risk. Prospective studies and studies with a bigger sample are needed to assess the real involvement of *PAI-1* and the polymorphisms associated with the increase in the incidence of cardiovascular diseases in people living with HIV.

## Acknowledgments

Financial Support:

The Brazilian Ministry of Health/ DST/AIDS/UNESCO Program (CSV 185/07 - Project AS 4917/07).

The authors were partially funded by the National Research Council (CNPq) - Scholarship 308590/2013-9 for D.B.M.F., 310911/2009-5 for H.R.L.M., 301779/2009-0 for M.F.P.M., 300917/2006-6 for R.A.A.X.

And, finally, to the Laboratory of Retro-virology of the UNIFESP-SP/Brazil and to the Graduate's Program in Tropical Medicine/ Department of Tropical Medicine/UFPE-PE/Brazil.

## References

1. Candiani TM, Pinto J, Cardoso CA, Carvalho IR, Dias AC, Carneiro M, Goulart EA. Impact of highly active antiretroviral therapy (HAART) on the incidence of opportunistic infection, hospitalizations and mortality among children and adolescents living with HIV/AIDS in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. *Cad Saude Publica* . 2007;23 Suppl 3:S414-23.
2. Piconi S, Parisotto S, Rizzadini G, Passerini S, Meraviglia P, Schiavini M, Niero F, Biasin M, Bonfanti P, Ricci ED, Trabattoni D, Clerici M. Atherosclerosis is associated with multiple pathogenic mechanisms in HIV-infected antiretroviral-naive or treated individuals. *AIDS*. [s.l.] v.27, p.381-9, 2013.
3. Wada N, Jacobson LP, Cohen M, French A, Phair J, Muñoz A. Cause-specific life expectancies after 35 years of age for human immunodeficiency syndrome-infected and human immunodeficiency syndrome-negative individuals followed simultaneously in long-term cohort studies, 1984-2008. *American Journal of Epidemiology*. [s.l.] v.177, p.116-25, 2013.
4. Ingle SM, May MT, Gill MJ, Mugavero MJ, Lewden C, Abgrail S, Fätkenheuer G, Reiss P, Saag MS, Manzardo C, Grabar S, Bruyard M, Moore D, Mocroft A, Sterling TR, D'Arminio Monteforte A, Hernando V, *et al*. Impact of risk factors for specific causes of death in the first and subsequent years of antiretroviral therapy among HIV-infected patients. *Clinical Infectious Diseases*. [s.l.] v.59, p.287-97, 2014.
5. Wilson PWF, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. [s.l.] v. 97, p.1837- 47, 1998.
6. Moreira Guimarães MM, Bartolomeu Greco D, Ingles Garces AH, de Oliveira AR Jr, Bastos Fóscolo R, de Campos Machado LJ. Coronary heart disease risk assessment in HIV-infected patients: a comparison of Framingham, PROCAM and SCORE risk

- assessment functions. *International Journal of Clinical Practice*. [s.l.], v.64, p.739-45, 2010.
7. Barros ZM, de Alencar Ximenes RA, Miranda-Filho DB, de Albuquerque Mde F, Melo HR, Carvalho EH, Gelenske T, Diniz G, Bandeira F. Comparison between the Framingham and prospective cardiovascular of Münster scores for risk assessment of coronary heart disease in human immunodeficiency virus-positive patients in Pernambuco, Brazil. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. [s.l.], v.8, p.489-97, 2010.
  8. Gelenske T, e Farias FA, de Alencar Ximenes RA, de Melo HR, de Albuquerque Mde F, de Carvalho EH, de Medeiros Barros Z, Diniz GT, Filho DdeB. Risk factors in human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome patients undergoing antiretroviral therapy in the state of Pernambuco, Brazil: a case-control study. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. [s.l.], v. 8, p.271-7, 2010.
  9. De Carvalho EH, Miranda Filho Dde B, Ximenes RA, de Albuquerque Mde F, de melo HR, Gelenske T, Medeiros Zde B, Motarroyos U, Bandeira F. Prevalence of hyperapolipoprotein B and associations with other cardiovascular risk factors among human immunodeficiency virus-infected patients in Pernambuco, Brazil. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. [s.l.], v.8; p.403-10, 2010.
  10. Libby P, Ridker PM & Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*. [s.l.] v.473, p.317-25, 2011.
  11. Zorio E, Gilabert-Estellés J, Ramón LA, Cosín R, Estellés A. FIBRINOLISYS: the key to new pathogenetic mechanism. *Current Medicinal Chemistry*. [s.l.] v.15, p.923-9, 2008.
  12. Lopes C, Dina C, Durand E, Froquel P. *PAI-1* polymorphisms modulate phenotypes associates with the metabolic syndrome in obese and diabetic caucasian population. *Diabetologia*. [s.l.] Sep;46(9):1284-90, 2003.
  13. Henry M, Tregouët DA, Alessi MC, Ailleud MF, Visvikis S, Siest G, Juhan-Vague I. Metabolic determinants are much more important than genetic polymorphism in determining the *PAI-1* activity and antigen plasma concentrations. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. [s.l.] v.18, p.84-91, 1998.
  14. Huang J, Sabater-Leal M, Asselbergs FW, Tregouet D, Shin SoYoun, Jingzhong D, Baumert J, Oudot-Mellakh T, Folkersen L, Johnson AD, Smith NL, Williams SM, Ikram MA, Kleber ME, Becker DM, *et al*. Genome-wide association study for circulation levels of *PAI-1* provides novel insights into it regulation. *Blood*. [s.l.] v.120, p.4873 – 81, 2012.
  15. Lima LM, Carvalho MG, Neto CPF, Garcia JCF, Sousa MO. Associação de níveis plasmáticos de *PAI-1* e polimorfismo 4G//5G em pessoas com doença arterial coronariana. *Arquivos Brasileiro de Cardiologia*. [s.l.] v.97, p.462-67, 2011.

16. Guzman-Fulgencio F, Medrano J, Rallón N, Echeverria-Urabayen A, Miguel Benito J, Restrepo C, García-Álvarez M, Vispo E, San Roman J, Sánchez-Piedra C, Soriano V, Resino S. Soluble markers of inflammation are associated with Framingham scores in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy. *Journal of Infection*. [s.l.] v.63, p.382-90, 2011.
17. Pirs M, Jug B, Erzen B, Sabovic M, Karner P, Poljak M, Tomazic J. Relationship between markers of endothelial dysfunction and inflammation and subclinical atherosclerosis in HIV-infected male patients below 55 years of age. *Acta Dermatoverologica*. [s.l.] v.23, p.49-52, 2014.
18. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge *Clin Chem*, 1972, 18: 499-504.
19. Bonyadi M, Shaghghi Z, Haghi M, Dastgiri S. Plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphism in Iranian Azeri Turkish patients with FMF disease and its association with amyloidosis. *Eur J Pediatr*. 2013 Jan;172(1):91-8. doi: 10.1007/s00431-012-1844-z. Epub 2012 Oct 5. PMID: 23052617 [PubMed - indexed for MEDLINE]
20. Martínez-Calatrava MJ, Martínez-Larrad MT, Zabena C, González-Sánchez JL, Fernández-Pérez C, Serrano-Ríos M. The 4G/4G *PAI-1* genotype is associated with elevated plasma *PAI-1* levels regardless of variables of the metabolic syndrome and smoking status. A population-based study in Spanish population. *Diabetes Obes Metab*. [s.l.] Jan;9(1):134-5, 2007
21. De Luca A, de Gaetano DK, Colafigli M, Cozzi-Lepri A, De Curtis A, Gori A, Sighinolfi L, Giacometti A, Capobianchi MR, D'Avino A, Lacoviello L, Cuda R, D'Arminio Monforte A. The association of high-sensitivity c-reactive protein and other biomarkers with cardiovascular disease in patients treated for HIV: a nested case-control study. *BMC Infectious Disease*. [s.l.] v.13, p.414- 2013.
22. Knudsen A, Katzenstein TL, Bendib T, Jørgensen NR, Kronborg G, Gerstoft J, Obel N, Kjær A, Lebech AM. Plasma plasminogen activator inhibitor-1 predicts myocardial infarction in HIV-1-infected individuals. *AIDS*. [s.l.] v.28, p.1171-9, 2014.
23. Perés Wingeyer SD, Cunto Er, Nogueras CM, San Juan JA, Gomez N, de Larrañaga GF. Biomarkers in sepsis at time zero: intensive care unit scores, plasma measurements and polymorphisms in Argentina. *The Journal of Infection in Developing Countries*. [s.l.] v.23, p.555-62, 2012.
24. Boncoraglio, GB, Bodini, A, Brambilla C, Carriero MR, Ciusani E, Parati EA. An effect of the *PAI-1* 4G/5G polymorphism on cholesterol levels may explain conflicting associations with myocardial infarction and stroke.

25. Nikolopoulos GK, Bagos PG, Tsangaris CG, Tsiara CG, Kopterides P, Vaiopoulos A, Kapsimali V, Bonovas S, Tsantes AE. The association between plasminogen activator inhibitor type 1 (*PAI-1*) levels, *PAI-1* 4G/5G polymorphism, and myocardial infarction: a Mendelian randomization meta-analysis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. [s.l.] v.52, p.937-50, 2014.
26. Fox CS, Larson MG, Corey D, Feng D, Lindpaintner K, Polak JF, Wolf PA, D'Agostino RB, Tofler GH, O'Donnell CJ. Absence of association between polymorphisms in the hemostatic factor pathway genes and carotid intimal medial thickness: the Framingham Heart Study. *Stroke*. [s.l.] v.35, p. e65-e67, 2004.
27. Li, YY. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism and coronary artery disease in the Chinese Han population: a meta-analysis. *PLoS One*. [s.l.] v.7, p. e33511, 2012.
28. Festa, A, D'Agostino RJr, Rich SS, Jennu NS, Tracy RP, Haffner SM. Promoter (4G/5G) plasminogen activator inhibitor-1 genotype and plasminogen activator Inhibitor-1 levels in black, hispanics and non-hispanics whites. *Circulation*. [s.l.] v.107, p.2422-2427, 2003.
29. Kim KN, Kim, KM, Kim BT, Joo NS, Cho DY, Lee DJ. Relationship of plasminogen activator inhibitor 1 gene 4G/5G polymorphism to hypertension in Korean women. *Chinese Medical Journal*. [s.l.] v.125, p.1249-53, 2012.
30. Fuchs SC, Alencastro PR, Ikeda, ML, Barcellos NT, Wolff FH, Brandão AB, Ximenes RA, Miranda-Filho Dde B, Lacerda HR, de Albuquerque Mde F, Montarroyos UR, Nery MW, Tuchi MD. Risk of Coronary Heart Disease among HIV-Infected Patients: A Multicenter Study in Brazil. *The Scientific World Journal*. [s.l.], v.2013, Article ID 163418, 2013. Accessed in <<http://www.hindawi.com/search/id/163418/or/page/163418>
31. Falcão Mda C, Zirpoli JC; Albuquerque VM, Markman Filho B, Araújo NA, Falcão CA, Miranda-Filho Dde B, Ximenes RA, Albuquerque Mde F, Lacerda HR. Association of biomarkers with atherosclerosis and risk for coronary artery disease in patients with HIV. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. [s.l.] v. 99, p. 971-8, 2012.
32. Estrada V, Bernardino JI, Masiá M, Iribarren JA, Ortega A, Lozano F, Miralles C, Olalla J, Santos J, Elías MJ, Domingo P, Cruz AF. Cardiovascular risk factors and lifetime risk estimation in HIV-infected patients under antiretroviral treatment in Spain. *HIV Clinical Trials*. [s.l.] v.22, p.1528433614Z0000000008, 2015.
33. Souza, SJ, Luzia LA, Santos SS, Rondó PH. Lipid profile of HIV-infected patients in relation to antiretroviral therapy: a review. *Revista da Associação Médica Brasileira*. [s.l.] v.59, p. 186-98, 2013.
34. Lubrano V & Balzan S. Consolidated and emerging inflammatory markers in coronary artery disease. *World Journal of Experimental Medicine*. [s.l.] v.5, p.21-32, 2015.

35. Lo J. Dyslipidemia and lipid management in HIV-infected patients. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. [s.l.] v. 18, p.144-7, 2011.

**Table 1** - General characteristics of study population.

<b>Variables</b>	<b>All</b>	<b>CVR &lt; 10%</b>	<b>CVR &gt; 10%</b>	<b><math>\rho</math></b>
Sample size (N)	162	145	17	
<b>Biologic variables</b>				
Age (years) *	40,52 $\pm$ 9,2	39,3 $\pm$ 8,7)	50,9 $\pm$ 6,3	0,001
Female sex – N (%)	118 (72,8)	108 (74,5)	10 (58,8)	0,17
<b>Anthropometric variables</b>				
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )*	24,7 $\pm$ 5,3	24,5 $\pm$ 5,3	26,7 $\pm$ 4,7	0,09
Waist ♀ *	85,9 $\pm$ 11,6	85,6 $\pm$ 11,6	89,1 $\pm$ 12,4	0,4
Waist ♂ *	85,5 $\pm$ 10,8	84,7 $\pm$ 9,7	95,2 $\pm$ 12,8	0,02
SBP (mmHg)*	118,4 $\pm$ 18,5	116,8 $\pm$ 17,9	132,6 $\pm$ 17,5	< 0,001
DBP (mmHg)*	80,8 $\pm$ 13,5	79,5 $\pm$ 13,2	91,9 $\pm$ 10,6	< 0,001
<b>Life style variable</b>				
Smoking – N (%)	26 (16,1)	21 (14,5)	5 (29,4)	0,11
<b>Biochemical variables</b>				
Total Cholesterol (mg/dL)*	184,9 $\pm$ 49,8	182, 1 $\pm$ 51,2	208,8 $\pm$ 26,8	<b>0,03</b>
LDL Cholesterol (mg/dL)*	111,9 $\pm$ 51,9	109,7 $\pm$ 53,6	131,8 $\pm$ 25,1	0,1
HDL Cholesterol (mg/dL), ♀ *	44,6 $\pm$ 13,5	45,2 $\pm$ 13,9	38,9 $\pm$ 5,7	0,16
HDL Cholesterol (mg/dL), ♂ *	42,3 $\pm$ 3,4	43,8 $\pm$ 13,7	34,9 $\pm$ 8,7	0,07
Triglycerides (mg/dL)*	178 $\pm$ 131,1	167,1 $\pm$ 127	271,6 $\pm$ 132	0,002
Fast glucose (mg/dL)*	92,7 $\pm$ 24,7	91,7 $\pm$ 22,4	101,5 $\pm$ 39	0,12
NHDLc (mg/dL)*	140,9 $\pm$ 51,8	137,3 $\pm$ 52,8	172,1 $\pm$ 27,8	0,008
TG/HDL*	4,6 $\pm$ 3,7	4,1 $\pm$ 3,3	8,01 $\pm$ 5,1	< 0,001
<b>HIV related variables</b>				
CD4 $\leq$ 200/mm <sup>3</sup> – N (%)	21 (13)	20 (13,7)	1 (5,9)	0,34
CD4 $\leq$ 350/mm <sup>3</sup> – N (%)	66 (40,7)	63 (43,4)	3 (17,6)	0,03
Time since HIV diagnosis (years)*	4,6 $\pm$ 4,2	4,4 $\pm$ 3,9	6,2 $\pm$ 5,8	0,09
<b>HAART variables</b>				
Time using ARV (years)*	4,2 $\pm$ 3,3	4,1 $\pm$ 3,2	5,2 $\pm$ 3,7	0,23
Use of ARV – N (%)	122 (75,3)	109 (75,2)	13 (76,5)	0,9
<b>Clinical variables</b>				
D ysipidemia – N (%)	133 (82,1)	116 (80)	17 (100)	<b>0,04</b>
Hypertension – N (%)	62 (38,3)	48 (33,1)	14 (82,3)	<0,001
Diabetes Mellitus– N (%)	8 (4,9)	3 (2,1)	5 (29,4)	<0,001
Overweight – N (%)	72 (44,4)	60 (41,4)	12 (70,6)	0,054
PAI-1 activated*	14,4 $\pm$ 5,5	14,4 $\pm$ 5,3	14,6 $\pm$ 7,1	0,9

\* Mean and standard deviation

**Table 2** - Frequency of PAI-1 4G5G polymorphism and plasma levels of activated PAI-1 in people infected with HIV (PIH) according to low and high risk of cardiovascular diseases (RCD) estimated to the Framingham score.

	RCD < 10%	RCD > 10%	$\rho$	All
<b>4G4G polymorphism</b> N(%)	6 (4,1%)	2 (11,8%)		8 (4,9%)
<b>PAI-1 activated</b> (ng/ml) $\pm$ SD	16,8 (7,3)*	17,5 (9,2)*	0,9	16,9 (7,1)*
<b>4G5G - polymorphism</b> N(%)	126 (86,9%)	13 (76,4%)		139 (85,8%)
<b>PAI-1 activated</b> (ng/ml) $\pm$ SD	14,4 (5,4)*	14 (7,4)*	0,8	14,3 (5,5)*
<b>5G5G – Polymorphism</b> N(%)	13 (8,9%)	2 (11,8%)		15 (9,3%)
<b>PAI-1 activated</b> (ng/ml) $\pm$ SD	13,7 (4,8)*	15,5 (5,5)*	0,6	13,9 (4,7)*
<b>N</b>	145	17		162

\* Mean and standard deviation (SD)

**Table 3** - Association between PAI-1 4G5G polymorphism and risk for cardiovascular diseases (RCD), hypertension, diabetes mellitus, non- HDL cholesterol (NHDLC) and triglyceride/HDL ratio in people infected with HIV.

Polymorphism	CASES	CONTROLS	$\rho$
	RCD > 10%	RCD < 10%	
5G5G – N (%)	2 (11,8)	13 (9)	0,7*
4G4G/4G5G – N (%)	15 (88,2)	132 (91)	
OR (CI95%)	0,6 (0,1 – 3,7)		0,6**
	Hypertension (+)	Hypertension (-)	
5G5G– N (%)	7 (11,3)	8 (8)	0,5*
4G4G/4G5G– N (%)	55 (88,7)	92 (92)	
OR (CI95%)	0,6 (0,2 – 2,0)		0,4**
	DM (+)	DM (-)	
5G5G– N (%)	0	15 (9,7)	0,4*
4G4G/4G5G– N (%)	8 (100)	139 (90,3)	
OR (CI95%)	-		
	TC High	TC normal	
5G5G– N (%)	9 (16,4)	6 (5,6)	0,02*
4G4G/4G5G– N (%)	46 (83,6)	101 (94,4)	
OR (CI95%)	0,3 (0,1 – 0,8)		0,02**
	HDL Low	HDL normal	
5G5G– N (%)	11 (10,1)	4 (7,5)	0,6*
4G4G/4G5G– N (%)	98 (89,9)	49 (92,5)	
OR (CI95%)	0,6 (0,2 – 2,2)		0,5**
	NHDLC High	CNHDLC normal	
5G5G– N (%)	9 (16,1)	6 (5,7)	0,03*
4G4G/4G5G– N (%)	47 (83,9)	100 (94,3)	
OR (CI95%)	0,3 (0,1 – 0,8)		0,02**
	TG/HDL High	TG/HDL normal	
5G5G– N (%)	5 (6,9)	10 (11,1)	0,4*
4G4G/4G5G– N (%)	67 (93,1)	80 (88,9)	
OR (CI95%)	1,7 (0,5 – 5,4)		0,4**

\*  $\rho$  value for chi-square test; \*\*  $\rho$  value for the odds ratios (OR) adjusted for gender, age and smoking; CI95%: confidence interval of 95%. RCD: risk of cardiovascular disease estimated through the Framingham score; DM: diabetes mellitus; TC: Total Cholesterol; HDL: high-density lipoprotein; NHDLC: Non-HDL Cholesterol; TG: triglycerides.

**Table 4** - Association of activated PAI-1 with the risk for cardiovascular diseases (RCD), hypertension, diabetes mellitus, non-HDL cholesterol (NHDLC) and triglyceride/HDL ratio in people infected with HIV.

	CASES	CONTROLS	<i>p</i> *
	RCD High	RCD low	
<b>Activated PAI-1</b> Mean - ng/mL (CI 95%)	14,6 (10,9 – 18,2)	14,4 (13,5 – 15,3)	0,9
	Hypertension (+)	Hypertension (-)	
	14,1 (12,7 - 15,5)	14,6 (13,5 – 15,7)	0,6
	DM (+)	DM (-)	
	14,4 (11,3 – 17,6)	14,4 (13,5 – 15,3)	0,9
	TC High	TC normal	
	15,6 (13,8 – 17,3)	13,8 (12,9 – 14,7)	0,06
	HDL Low	HDL normal	
	14,9 (13,7 – 16)	13,5 (12,2 – 14,8)	0,15
	NHDLC High	NHDLC normal	
15,6 (13,9 – 17,4)	13,8 (12,9 – 14,7)	0,04	
TG/HDL High	TG/HDL normal		
14,5 (13,2 – 15,8)	14,4 (13,2 - 15, 5)	0,9	

\**p*: *p* value for t student test; CI95%: confidence interval of 95%. RCD: risk of cardiovascular disease estimated through the Framingham score; DM: diabetes mellitus; TC: Total Cholesterol; HDL: high-density lipoprotein; NHDLC: Non-HDL Cholesterol; TG: triglycerides.

**ANEXOS**

**Anexo A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA****COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS**

Pavilhão Ovídio Montenegro – 1o. andar  
Rua Amóbio Marques, 310 – Santo Amaro – 50100-130 – Recife-PE  
Fone: (81) 2101.1530 - Fone/Fax: (81) 2101.1536  
E-mail: [cephuoc@yahoo.com.br](mailto:cephuoc@yahoo.com.br)

Reunião: 26/09/2006

Parecer/CEP/HUOC 127/2006

*Projeto: Investigação prospectiva sobre lipodistrofia e alterações metabólicas (síndrome metabólica e perda de massa óssea) como efeito adverso da terapia anti-retroviral em adultos, adolescentes e crianças com HIV/AIDS no estado de Pernambuco com avaliação não invasiva de dano vascular e estudo polimorfismo genético associado à resistência à insulina.*

**Pesquisador Principal:** Demócrito de Barros Miranda Filho

**Resultado:** APROVADO

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
Prof. Wilson de Oliveira Jr.  
Coordenador

**Anexo B – CARTA DE ANUÊNCIA DO HOSPITAL CORREIA PICANÇO**

Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco  
HOSPITAL CORREIA PICANÇO -SES

**CARTA DE ANUÊNCIA**

Declaramos, para os devidos fins, que concordamos que o projeto de pesquisa Interinstitucional **“INVESTIGAÇÃO PROSPECTIVA SOBRE LIPODISTROFIA E ALTERAÇÕES METABÓLICAS (SINDROME METABOLICA E PERDA DE MASSA ÓSSEA) COMO EFEITO ADVERSO DA TERAPIA ANTI-RETROVIRAL EM ADULTOS, ADOLESCENTES E CRIANÇAS COM HIV/AIDS NO ESTADO DE PERNAMBUCO COM AVALIAÇÃO NÃO INVASIVA DE DANO VASCULAR E ESTUDO DO POLIMORFISMO GENETICO ASSOCIADO Á RESISTENCIA Á INSULINA”**, envolvendo pacientes atendidos no Hospital Universitário Oswaldo Cruz – UPE, Hospital das Clinicas – UFPE e Hospital Correia Picanço – SES/PE, seja desenvolvido nesta unidade, tendo em vista parecer favorável da Coordenação de Ensino e Pesquisa desse serviço.

Solicitamos que ao término do projeto sejamos informados dos resultados e conclusões que irão contribuir positivamente para o aprimoramento da assistência aos nossos usuários.

Recife, 24 de março de 2008.

Dr<sup>a</sup>. Miriam Silveira

Rua Padre Roma,149 – Tamarineira - Recife/PE  
Fone:3265.8700(Central)/3265.8703(Diretoria)  
E-mail: hospcp@saude.pe.gov.br

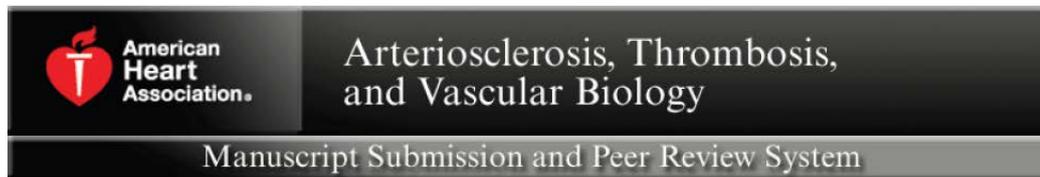
## Anexo C – Escore de Risco de Framingham para Doença Cardio Vascular

Quadro 15 – Estratificação de risco pelos escores de Framingham			
<b>PASSO 1</b>			
Idade	Homens	Mulheres	
30 – 34	-1	-9	
35 – 39	0	4	
40 – 44	1	0	
45 – 49	2	3	
50 – 54	3	6	
55 – 59	4	7	
60 – 64	5	8	
65 – 69	6	8	
70 – 74	7	8	
<b>PASSO 2</b>			
Colesterol Total (mg/dL)	Homens	Mulheres	
< 160	-3	-2	
160 – 199	0	0	
200 – 239	1	1	
240 – 279	2	1	
≥ 280	3	3	
<b>PASSO 3</b>			
HDL-C (mg/dL)	Homens	Mulheres	
< 35	2	2	
35 – 41	1	2	
45 – 49	0	1	
50 – 59	0	0	
≥ 60	-1	-3	
<b>PASSO 4 *</b>			
PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	Homens	Mulheres
< 120	< 80	0	-3
120 – 129	80 – 84	0	0
130 – 139	85 – 89	1	0
140 – 159	90 – 99	2	2
≥ 160	≥ 100	3	3
<b>PASSO 5 E 6</b>			
Diabetes	Homens		Mulheres
Sim	2		4
Não	0		0
Fumo	Homens		Mulheres
Sim	2		2
Não	0		0
<b>PASSO 7</b>			
Idade + CT + HDL-C + PAS ou PAD + DM + Fumo = total de pontos			
<b>PASSO 8 – VEJA O RISCO ABSOLUTO NAS TABELAS</b>			
Homens Pontos	Homens Risco de DAC em 10 anos (%)	Mulheres Pontos	Mulheres Risco de DAC em 10 anos (%)
< -1	2	≤ -2	1
0	3	-1	2
1	3	0	2
2	4	1	2
3	5	2	3
4	7	3	3
5	8	4	4
6	10	5	4
7	13	6	5
8	16	7	6
9	20	8	7
10	25	9	8
11	31	10	10
12	37	11	11
13	45	12	13
≥ 14	53	13	15
		14	18
		15	20
		16	24
		17	≥ 27

## Anexo D – Comprovante de Submissão de Artigo 1

26/08/2015

Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology


[Tracking System Home](#)
[Author Help](#)
[Reviewer Help](#)
[Tips](#)
[Change Journal](#)
[Logout](#)

### Live Manuscripts

[View Manuscript # ATVB/2015/306491 0 days](#)
[View Manuscript # ATVB/2015/306492 0 days](#)

[Journal Home](#) | [Instructions for Authors](#) | [Editorial Board](#) | [Contact the Journal](#) | [AHA Journals Home](#) | [Feedback](#)
[ATVB Council](#) | [About AHA](#) | [AHA Ethics Policy](#) | [Donate to AHA](#)
[Terms of Service](#) | [EJPress Software by eJournalPress](#) | [Licensed under Patent #US 7,620,555B1](#)

©2015 American Heart Association, Inc. All rights reserved. Unauthorized use prohibited.

[ATVB/2015/306491 Acknowledgment of Manuscript \(3\)](#)
[Pessoas](#)
[atvb@atvb.org](mailto:atvb@atvb.org)
Para [georggego@yahoo.com.br](mailto:georggego@yahoo.com.br)CC [democrito@pq.cnpq.br](mailto:democrito@pq.cnpq.br), [thais.gelenske@gmail.com](mailto:thais.gelenske@gmail.com), [fbandeira@gmail.com](mailto:fbandeira@gmail.com), [helramos@terra.com.br](mailto:helramos@terra.com.br), [milltaofatima@gmail.com](mailto:milltaofatima@gmail.com), e 4 mais...

Ago 27 em 10:00 AM \*

August 27, 2015

Mr. George Gomes Oliveira  
 UFPE  
 PPG MED TROP  
 Tito Rosas, 152/ 701, Pamamirim  
 Recife - Pernambuco 52060050  
 BRAZIL

RE: ATVB/2015/306491: Polymorphism of SERPINE1(PAI-1) and Its Association with plasmatic PAI-1 and Metabolic Syndrome in People Living with HIV/AIDS in Pernambuco, Brazil  
 Author List: George Oliveira, Demócrito Miranda-Filho, Thais Gelenske, Francisco Bandeira, Heloisa Lacerda, Maria de Fátima de Albuquerque, Ulisses Ramos Montarroyos, Ricardo Sorbie, and Ricardo Araes de Alencar Ximenes

Dear Dr. Oliveira:

This note confirms receipt of your manuscript, submitted to Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.

The manuscript has been assigned the manuscript number: ATVB/2015/306491.

Please be sure to review the author listing above to confirm it is as you thought it to be.

Your manuscript is in the review process. We will inform you of the initial decision as soon as possible. In future correspondence, please refer to the manuscript number noted above.

The decision will be sent to you by email.

Thank you for sending your manuscript to us.

Sincerely,

ATVB Editorial Office



## Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology

Manuscript Submission and Peer Review System

**Disclaimer: The manuscript and its contents are confidential, intended for journal review purposes only, and not to be further disclosed.**

**URL:** <http://atvb-submit.aha-journals.org>

**Manuscript Number:** ATVB/2015/306491

**Title:** Polymorphism of -675 Region of Gene SERPINE1 (PAI-1) and its Association with PAI-1 Plasma Levels and Metabolic Syndrome in People Living with HIV/AIDS in Pernambuco, Brazil

**Authors:** George Oliveira (UFPE), Demócrito Miranda-Filho (University of Pernambuco), Thais Gelenske (Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira), Francisco Bandeira (Universidade de Pernambuco), Heloisa Lacerda (UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO), Maria de Fátima de Albuquerque (FIOCRUZ), Ulisses Ramos Montarroyos (Post-Graduate Program of Tropical Medicine, Health Sciences Center, Universidade Federal de Pernambuco), Ricardo Sorbie (UNIFESP), and Ricardo Arraes de Alencar Ximenes (Post-Graduate Program of Tropical Medicine, Health Sciences Center, Universidade Federal de Pernambuco)

For ATVB Peer Review. . .  
after L

## Anexo E – Comprovante de Submissão de Artigo 2

26/08/2015

Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology



Arteriosclerosis, Thrombosis,  
and Vascular Biology

Manuscript Submission and Peer Review System

Tracking System Home    Author Help    Reviewer Help    Tips    Change Journal    Logout

### Live Manuscripts

[View Manuscript # ATVB/2015/306491 0 days](#)

[View Manuscript # ATVB/2015/306492 0 days](#)



[Journal Home](#) | [Instructions for Authors](#) | [Editorial Board](#) | [Contact the Journal](#) | [AHA Journals Home](#) | [Feedback](#)

[ATVB Council](#) | [About AHA](#) | [AHA Ethics Policy](#) | [Donate to AHA](#)

[Terms of Service](#) | [EJPress Software by eJournalPress](#) | [Licensed under Patent #US 7,620,555B1](#)

©2015 American Heart Association, Inc. All rights reserved. Unauthorized use prohibited.

Em Quarta-feira, 26 de Agosto de 2015 22:29, "atvb@atvb.org" <atvb@atvb.org> escreveu:

August 26, 2015

Mr. Georrgge Gomes Oliveira  
UFPE  
PPG MED TROP  
Tito Rosas, 152/ 701, Parnamirim  
Recife - Pernambuco 52060050  
BRAZIL

RE: ATVB/2015/306492:Association of the Polymorphism of SERPINE1(PAI-1) and plamatic PAI-1 with Cardiovascular Risk in People Living with HIV/AIDS in Pernambuco - Brazil  
Author List:Georrgge Oliveira, Demócrito Miranda-Filho, Thais Gелenske, Francisco Bandeira, Heloisa Lacerda, Maria de Fátima de Albuquerque, Ulisses Ramos Montarrojos, Ricardo Sorbie, and Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Dear Dr. Oliveira:

This note confirms receipt of your manuscript, submitted to Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.

The manuscript has been assigned the manuscript number: ATVB/2015/306492.

Please be sure to review the author listing above to confirm it is as you thought it to be.

Your manuscript is in the review process. We will inform you of the initial decision as soon as possible. In future correspondence, please refer to the manuscript number noted above.

The decision will be sent to you by email.

Thank you for sending your manuscript to us.

Sincerely,

ATVB Editorial Office



## Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology

Manuscript Submission and Peer Review System

**Disclaimer: The manuscript and its contents are confidential, intended for journal review purposes only, and not to be further disclosed.**

URL: <http://atvb-submit.aha-journals.org>

**Manuscript Number:** ATVB/2015/306492

**Title:** Association of the Polymorphism of the -675 Region of the Gene SERPINE1 (PAI-1) and the Activated PAI-1 Levels with the Cardiovascular Risk in People Living with HIV/AIDS in Pernambuco - Brazil

**Authors:** George Oliveira (UFPE), Demócrito Miranda-Filho (University of Pernambuco), Thais Gelenske (Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira), Francisco Bandeira (Universidade de Pernambuco), Heloisa Lacerda (UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO), Maria de Fátima de Albuquerque (FIOCRUZ), Ulisses Ramos Montarroyos (Post-Graduate Program of Tropical Medicine, Health Sciences Center, Universidade Federal de Pernambuco), Ricardo Sorbie (UNIFESP), and Ricardo Arraes de Alencar Ximenes (Post-Graduate Program of Tropical Medicine, Health Sciences Center, Universidade Federal de Pernambuco)

For ATVB Peer Review. -  
after 4