



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA  
SERGIO AROUCA  
ENSP

Rodrigo de Carvalho Moreira

**Mortalidade por Diabetes Mellitus e fatores associados à doença cardiovascular em uma  
Coorte de pacientes infectados pelo HIV**

Rio de Janeiro

2018

RODRIGO DE CARVALHO MOREIRA

**Mortalidade por Diabetes Mellitus e fatores associados à doença cardiovascular em uma  
Coorte de pacientes infectados pelo HIV**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Epidemiologia em Saúde Pública, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Antonio G. F. Pacheco

Rio de Janeiro

2018

Catálogo na fonte

Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde  
Biblioteca de Saúde Pública

M838m      Moreira, Rodrigo de Carvalho.

Mortalidade por Diabetes Mellitus e fatores associados à doença cardiovascular em uma Coorte de pacientes infectados pelo HIV / Rodrigo de Carvalho Moreira. -- 2018.180 f. : tab.

Orientador: Antonio Guilherme Fonseca Pacheco.

Tese (doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2018.

1. Infecções por HIV. 2. Diabetes Mellitus - mortalidade. 3. Doenças Cardiovasculares. 4. Análise de Onda de Pulso. 5. Pontuação de Propensão. 6. Fatores de Risco. I. Título.

CDD – 22.ed. – 616.9792

Rodrigo de Carvalho Moreira

**Mortalidade por Diabetes Mellitus e fatores associados à doença cardiovascular em uma  
Coorte de pacientes infectados pelo HIV**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Epidemiologia em Saúde Pública, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovada em 30 de maio de 2018

Banca Examinadora

Dra. Aline Araújo Nobre  
PROCC/FIOCRUZ

Dr. Fábio Antonio Abrantes Tuche  
BIOVASC/UERJ

Dra. Maria de Jesus Mendes da Fonseca  
ENSP/FIOCRUZ

Dra. Sandra Wagner Cardoso  
INI/FIOCRUZ

Dr. Antonio Guilherme Fonseca Pacheco  
PROCC/FIOCRUZ

Rio de Janeiro

2018

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer a algumas pessoas em especial.

Primeiramente ao meu orientador Antonio Guilherme Pacheco que sempre esteve pronto a me tirar dúvidas, discutir sobre os tópicos do projeto assim como o auxílio nas ferramentas e scripts do R. Suas sugestões também melhoraram substancialmente a metodologia e a discussão dos resultados obtidos.

A parceria com Adelzon de Paula na produção do primeiro artigo e de futuros trabalhos que virão.

A equipe do Instituto Nacional de Infectologia, do laboratório de pesquisa clínica em AIDS e do gerenciamento de dados que sempre tiveram muito zelo com a coleta de informações do prontuário médico mostrando a importância que a informação bem gerenciada tem na pesquisa clínica.

Um agradecimento em particular a Dra Valdilea Veloso e a Dra Beatriz Grinsztejn que sempre incentivam de forma brilhante a pesquisa clínica dentro do laboratório e assim que cheguei me auxiliaram com o aprendizado e com o treinamento, me direcionando para os melhores profissionais e locais. Que cuidam de um laboratório que tem como excelência a assistência integral ao paciente e ao mesmo tempo combina a pesquisa clínica facilitando o acesso a saúde e o cuidado geral do paciente.

A toda equipe do estudo ELSA-Brasil que realiza um trabalho pioneiro e de grande importância para o país, gerando conhecimento epidemiológico em áreas chave para o desenvolvimento tecnológico, para o aprimoramento de lacunas e geração de conhecimento. O planejamento e a parceria que deu origem a coorte INI-ELSA-Brasil sendo possível pela primeira vez comparar uma grande população de pacientes HIV positivos com controles HIV negativos, totalizando mais de 15 mil participantes. Pela sua coleta de dados primorosa que já está gerando muitos frutos, enfim a todos e muitos profissionais anônimos em todas as etapas, mas que foram de grande importância para a realização deste projeto. Aos participantes que concordaram em submeterem-se aos procedimentos e exames do estudo.

A todos os revisores que contribuíram com sugestões para o aprimoramento dos artigos.

A meus pais e minha família pelo suporte, em especial para Flávia pelo apoio em nossas iniciativas em conjunto e a Deus que tudo permite ser realizado

*Ninguém é tão grande que não possa aprender,  
nem tão pequeno que não possa ensinar.*

Esopo, 620 a.C.

## RESUMO

A introdução e uso em larga escala da terapia antirretroviral combinada (TARV) em pacientes infectados pelo HIV ocasionou um profundo impacto no perfil de morbimortalidade desses pacientes. Com isso, aumentou o tempo de exposição desses indivíduos a fatores de risco cardiovascular, ligados ou não à imunodeficiência, com a consequente alteração das causas de morbimortalidade para aquelas não exclusivamente relacionadas à AIDS. Neste contexto, estratégias para a detecção precoce da aterosclerose subclínica e da DCV clínica poderiam levar a uma prevenção primária mais eficaz e reduzir a morbimortalidade em pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHA), particularmente naqueles de maior risco, como os com DM. Os objetivos do projeto foram: (1) estudar a associação entre DM e mortalidade em pacientes infectados pelo HIV; (2) investigar a associação entre infecção pelo HIV e alterações na velocidade de onda de pulso (VOP); (3) descrever a incidência e avaliar os fatores associados a aterosclerose e eventos cardiovasculares em uma coorte de PVHA. Como principais resultados encontramos primeiramente que o DM foi associado a aumento na mortalidade em PVHA, em comparação com indivíduos sem esta comorbidade. Posteriormente, verificamos que a infecção pelo HIV não foi associada a maior rigidez aórtica em PVHA, comparada a outros dois grupos não infectados. A rigidez das grandes artérias foi associada a fatores de risco tradicionais, principalmente a adiposidade abdominal. Finalmente, na análise do terceiro artigo encontramos que os fatores de risco tradicionais e relacionados ao HIV foram associados à incidência de DCV, sendo observado um gradiente de risco para o tabagismo. Adicionalmente, a estimativa de risco absoluto pelo algoritmo DAD foi a que mais se aproximou dos percentual de eventos observados. Concluímos a partir destas observações em conjunto que uma além das medidas usuais no acompanhamento de PVHA como por exemplo o uso de TARV e o controle da carga viral, é imprescindível implementar de forma rotineira uma avaliação mais criteriosa dos fatores de risco tradicionais para o desenvolvimento de DCV como medida efetiva para a prevenção primária nesta população, que envolveria principalmente intervenções para o controle do peso, a cessação do tabagismo e o acompanhamento da diabetes mellitus e suas complicações. Estas medidas apresentam potencial impacto para a saúde pública no país, se aplicadas a nível populacional.

Palavras chave: 1.Síndrome de imunodeficiência adquirida, 2.Diabetes Mellitus, 3.doenças cardiovasculares, 4.rigidez arterial, 5.aterosclerose



## ABSTRACT

After the widespread use of combination antiretroviral therapy (ART) in HIV-infected patients there has been a profound impact on morbidity and mortality profile among these patients, both in developed or developing countries, including Brazil. An immediate consequence was the rapid increase in survival in these individuals due to the reduction in rates of progression to acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and related mortality.. In this context, strategies for early detection of subclinical atherosclerosis and clinical CVD could lead to more effective primary prevention and reduce morbidity and mortality in people leaving with HIV/AIDS (PLHA), particularly those at higher risk, such as DM. The objectives of this study include 1) to study the association between DM and mortality in HIV-infected patients; 2) to investigate the association between HIV infection and changes in pulse wave velocity (PWV); 3) To describe the incidence and assess risk factors associated with atherosclerosis and cardiovascular events in a cohort of PLHA. As results we found that diabetes mellitus was associated with increased mortality in PLHA as compared to individuals without diabetes. Subsequently, we verified that HIV infection was not associated with greater aortic stiffness in PLHA compared to two other uninfected groups. The stiffness of the great arteries was associated with traditional risk factors, particularly with abdominal adiposity. Finally, in the analysis of the third article, we found that traditional and HIV-related risk factors were associated with the incidence of CVD, with a risk gradient for smoking. Additionally, the predicted risk by DAD algorithm was closer to the observed CVEs. What we can conclude from these observations together is that a more careful assessment of traditional risk factors for the development of CVD is recommended as an effective measure for primary prevention in PLHA, which would mainly involve interventions targeting weight control, smoking cessation and a careful follow-up of diabetes mellitus and its complications. These measures have a potential impact for public health in Brazil if applied at the population level.

Keywords: 1.Acquired Immunodeficiency Syndrome., 2.Diabetes Mellitus, 3.cardiovascular disease, 4.vascular stiffness, 5.atherosclerosis

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC - *American College of Cardiology*

AHA - *American Heart Association*

AIDS- Síndrome da imunodeficiência adquirida

Angio-TC - Angiotomografia Computadorizada

AVC - Acidente Vascular Cerebral

AZT – Zidovudina

CD4 - Linfócitos T CD4+

CDC - *Centers for Disease Control and Prevention*

cIMT - Espessura da íntima-média das carótidas

DAC - Doença Arterial Coronariana

DAP - Doença Arterial Periférica

DCV - Doença Cardiovascular

DM - Diabetes Mellitus

ELSA - Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto

HCV - Vírus da Hepatite C

HIV- Vírus da Imunodeficiência Humana

IAM - infarto Agudo do Miocárdio

ICAM-1 - Molécula de Adesão Intercelular-1

ICC – Insuficiência Cardíaca Congestiva

IL-6 – Interleucina-6

INI - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas

IP - Inibidor de Protease

ITRN - Inibidor de Transcriptase Reversa Análogo de Nucleosídeos

ITRNN - Inibidor de Transcriptase Reversa não Análogo de Nucleosídeos

PAF - Fator de Ativação Plaquetária

PCR - Proteína C Reativa

PET-Tomografia por Emissão de Pósitrons

PVHA - Pessoas Vivendo com HIV/AIDS

TARV - Terapia Antirretroviral Combinada

TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral alfa

VACS - *Veterans Aging Cohort Study*

VCAM 1 - Molécula de Adesão Celular Vascular-1

VOP - Velocidade de onda de pulso

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	41
2. JUSTIFICATIVA.....	61
3. OBJETIVOS.....	62
3.1    Objetivo Geral.....	62
3.2    Objetivos específicos e Hipóteses correspondentes:.....	63
4. METODOLOGIA.....	64
4.1    OBJETIVO ESPECÍFICO # 1.....	65
4.2    OBJETIVO ESPECÍFICO #2.....	67
4.3    OBJETIVO ESPECIFICO #3.....	79
5. RESULTADOS.....	89
5.1    PUBLICAÇÃO DO OBJETIVO ESPECÍFICO #1 SOB A FORMA DE ARTIGO.....	91
5.2    PUBLICAÇÃO DO OBJETIVO ESPECÍFICO #2 SOB A FORMA DE ARTIGO.....	120
5.3    RESULTADOS DO OBJETIVO ESPECÍFICO #3 SOB A FORMA DE ARTIGO.....	158
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	186
7. RECOMENDAÇÕES EFETIVAS PARA A REDUÇÃO DE RISCO CARDIOVASCULAR EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS.....	188
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	190

## 1. INTRODUÇÃO

Apesar dos avanços no tratamento, a infecção pelo HIV continua sendo um importante problema de saúde pública no Brasil e no mundo. Dados epidemiológicos do ano de 2017 indicam que cerca de 36,7 milhões de pessoas no mundo estavam infectadas pelo HIV, número similar a 2013 sendo 3,6 milhões dessas acima de 50 anos. Neste mesmo relatório de 2017, houve 1,8 milhões de novos casos, uma redução de 11% entre o período de 2010 e 2016 e o percentual de pessoas infectadas pelo HIV que não recebiam terapia antirretroviral foi reduzido de 90% em 2006 para em torno de 60% em 2017. Neste período, a prevalência de HIV no Brasil chegou a 0,4% da população adulta, sendo 830 mil o número de pacientes infectados pelo HIV, perfazendo uma prevalência em adultos entre 15 e 49 anos de 0,6%<sup>1;2</sup>.

A América Latina ocupa posição de destaque na epidemia de HIV/AIDS, com cerca de 1,8 milhões de infectados, sendo 97 mil novos casos e 37 mil óbitos relacionados à AIDS apenas em 2016. Em 2013 Argentina, Colômbia, México, Venezuela e Brasil contribuíram conjuntamente com aproximadamente 75% dos casos da doença, sendo que este último contabilizava 47% dos casos de HIV/AIDS da região<sup>3</sup>.

Desde a introdução do análogo de nucleosídeo Zidovudina (AZT) em 1985, a terapia antirretroviral vem sendo grandemente aprimorada. O ápice desse processo foi obtido com a combinação de drogas antirretrovirais, frequentemente referida como terapia antirretroviral combinada ou TARV a partir de 1996<sup>4</sup>. Nesta última década, a introdução e uso em larga escala da TARV modificou profundamente o perfil da epidemia de HIV/AIDS. Observou-se declínio importante da morbimortalidade relacionada ao HIV, tanto nos países em desenvolvimento, como

o Brasil, quanto nos desenvolvidos <sup>5; 6; 7; 8</sup>. Para melhor compreensão, atualmente alguns subgrupos de indivíduos infectados pelo HIV e sem comorbidades possuem sobrevida semelhante à da população em geral quando iniciam precocemente a TARV<sup>9; 10; 11</sup>.

Uma consequência imediata desta queda na morbimortalidade ligada diretamente ao HIV foi o aumento de eventos não diretamente relacionados à AIDS, incluindo as doenças cardiovasculares (DCVs) e a diabetes mellitus (DM) <sup>12; 13; 14; 15</sup>. Parte deste aumento de risco pode ser explicado pelas alterações metabólicas induzidas pela TARV como a dislipidemia, a DM, a lipodistrofia e a própria síndrome metabólica, além de uma maior prevalência dos fatores de risco cardiovascular classicamente estabelecidos. O processo inflamatório crônico desencadeado pela persistência do vírus no organismo levando a anormalidades no sistema de coagulação, disfunção endotelial e aterosclerose também tem sido implicado <sup>16</sup>.

## **MUDANÇA NO PERFIL DE MORTALIDADE**

A DM e as DCVs têm surgido cada vez mais como causas importantes de morbimortalidade em pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHA), seguindo a incidência decrescente de doenças oportunistas.

Os estudos SMART, SPIRIT e a colaboração *Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration*, dentre outros, documentaram essa mudança de perfil, mostrando que, apesar das causas ligadas à infecção pelo HIV continuarem no topo da lista de causas de óbito, outras causas como DM, DCVs, cânceres não relacionados à AIDS, doenças hepáticas e renais vêm sendo cada vez mais observadas nesses pacientes <sup>15; 17; 18; 19; 20; 21; 22</sup>.

A colaboração *The Data Collection on Adverse events of Anti-HIV Drugs (DAD)* acompanhou os participantes HIV-positivos tratados na Europa, nos EUA e na Austrália nos anos de 1999 a 2011 para identificar as tendências na mortalidade global e devida a causas específicas<sup>14</sup>. As principais causas de morte foram as relacionadas à AIDS, seguidas de cânceres não definidores de AIDS, doenças do fígado e DCV. As mortes por causas relacionadas à AIDS diminuíram no período estudado, mas manteve-se como a causa mais comum de morte. As mortes por DCV e doença hepática também diminuíram, enquanto as mortes por cânceres não relacionados com a AIDS aumentaram durante o período.

No Brasil, os dados sobre essa transição no perfil de morbimortalidade de pessoas vivendo com HIV/AIDS são escassos. Dados recentemente publicados demonstram que houve um aumento significativo da menção de condições não relacionadas à infecção pelo HIV e especificamente de DM e DCVs em pacientes que tiveram os códigos B20 a B24 da Classificação Internacional de Doenças 10ª edição (CID-10) mencionados em qualquer campo do seu atestado de óbito no Brasil de 1999 a 2004<sup>23</sup>. Esta tendência posteriormente foi confirmada, pois houve um aumento contínuo e significativo na proporção de condições não relacionadas à AIDS como causas de morte em PVHA. Em comparação ao grupo não infectado, DM, DCVs, cânceres não relacionados ao HIV e causas externas aumentaram significativamente no grupo infectado pelo HIV entre 1999 e 2011<sup>24</sup>.

Esses resultados foram corroborados com dados locais de uma coorte de PVHA no Rio de Janeiro que, no período de 2005 a 2006, apresentou mudança temporal nas taxas de mortalidade, com aumento de mortes não relacionadas à AIDS<sup>25</sup>. Dados da coorte do Instituto de Infectologia Evandro Chagas (INI) também mostraram uma diminuição importante nas taxas de mortalidade

global impulsionada por causas relacionadas à AIDS, que passou de 9,19 mortes/100 pessoas-ano de 1986 a 1991 para 1,35/100 pessoas-ano de 2007 a 2009<sup>26</sup>.

De forma bastante peculiar, o coeficiente padronizado de mortalidade por AIDS verificado para o estado do Rio de Janeiro (9,1/100 mil habitantes) é muito acima daquele calculado para o Brasil (5,5/100 mil habitantes). Comparado aos indicadores de outros estados da região Sudeste (3,5, 6,3, 5,2/100 mil habitantes para Minas Gerais, Espírito Santo e São Paulo, respectivamente), a discrepância da taxa de mortalidade por AIDS no Rio de Janeiro torna-se ainda mais evidente, possivelmente relacionado a detecção e assistência mais tardia da patologia<sup>27</sup>.

## **EPIDEMIOLOGIA DO DIABETES MELLITUS**

A prevalência da DM na população geral se encontra em torno de 8 a 10%. É um componente importante dos fatores de risco cardiovascular "comuns", responsável pela aceleração e agravamento da aterosclerose e fenômenos trombóticos. Os eventos cardiovasculares são responsáveis por cerca de 80% da mortalidade total na DM e esta patologia também induz alterações microangiopáticas peculiares que levam a nefropatia diabética, propiciando a insuficiência renal em fase terminal, e a retinopatia diabética, que pode progredir para a perda da visão e cegueira<sup>28</sup>.

Em termos de eventos cardiovasculares maiores, a DAC e o AVC são as principais causas de morbimortalidade em pacientes com DM. A doença arterial periférica (DAP), patologia que frequentemente leva à isquemia e amputação do membro, também é mais vista na DM e por



fim, a presença de alguns tipos de câncer <sup>29</sup>. Fatores levam a uma redução global da sobrevivência e aumento dos custos em saúde nesta população <sup>30</sup>.

A lesão e disfunção endotelial é o ponto de partida comum para estas condições vasculares através do estresse oxidativo e do declínio na produção de óxido nítrico, com ativação do sistema renina-angiotensina e da inflamação endotelial causada pela glicose, pela insulina e pelos produtos de glicação <sup>28</sup>. Geralmente é considerada o principal fator de risco cardiovascular, já que pacientes com DM sem infarto agudo do miocárdio (IAM) prévio têm o mesmo risco de um IAM que pacientes sem DM com IAM prévio <sup>31</sup>. Mais ainda, após o desenvolvimento da DCV, indivíduos com DM possuem um prognóstico pior do que aqueles sem esta comorbidade <sup>32</sup>.

Estudos angiográficos sugerem que pacientes com DM possuem doença aterosclerótica mais extensa, particularmente afetando as artérias coronárias<sup>33; 34</sup>. É reconhecida a maior probabilidade de morte súbita cardíaca e de IAM em pacientes com DM. As síndromes isquêmicas agudas, a doença arterial periférica e suas complicações também são mais frequentes nestes pacientes do que naqueles sem DM e, como os sintomas típicos do IAM muitas vezes são mascarados nestes pacientes, é comum a perda do seu diagnóstico <sup>35</sup>.

No Brasil, mais de 85% dos óbitos por DM ocorrem a partir dos 40 anos de idade, em ambos os sexos observando-se a partir de 1990 taxas ascendentes na mortalidade por DM, em todas as regiões brasileiras, com valores mais elevados no sexo feminino <sup>36</sup>. Em conjunto, estes dados traduzem a magnitude do problema em saúde pública que esta comorbidade propicia.

### **Diabetes Mellitus em pessoas vivendo com HIV/AIDS**

A prevalência da DM está aumentada (em torno de 12%) na presença de infecção pelo HIV e pode ser explicada em parte por uma série de fatores predisponentes que também estão presentes em pacientes não infectados: baixo nível socioeconômico, idade, obesidade e raça. No entanto, indivíduos com HIV apresentam outros fatores de risco para o desenvolvimento da DM. Por exemplo, a coinfeção pelo vírus da Hepatite C (HCV), a própria TARV e, de forma ainda não bem estabelecida devido a evidências contraditórias, os fatores relacionados à infecção pelo HIV, como tempo de infecção e baixa contagem de CD4<sup>37</sup>. Logo, observamos que a prevalência do DM em PVHA é até duas vezes maior em comparação à população em geral<sup>38</sup>. Além disto, dados da colaboração DAD mostraram que um novo diagnóstico de DM foi feito em 744 pacientes dentre 130.151 pessoas-ano de seguimento, uma taxa de incidência de 5,72/1.000 pessoas-ano. A incidência também aumentou com a exposição cumulativa a TARV<sup>39</sup>.

Outro fator importante é a infecção pelo HCV, transmitida principalmente por compartilhamento de seringas e agulhas entre usuários de drogas injetáveis. Está presente em cerca de 25% das PVHA, podendo chegar a 75% de prevalência dentre os que são usuários de drogas injetáveis<sup>40</sup>. A coinfeção HCV/HIV aumenta a taxa de progressão para fibrose e mortalidade hepática<sup>41; 42</sup> e está associada a maior resistência insulínica, propiciando o aumento na incidência de DM em PVHA. Esta última ocorre devido ao aumento do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) intra-hepático e à esteatose hepática, prejudicando a ação da insulina em tecidos periféricos e a absorção hepática da glicose<sup>43</sup>.

A síndrome metabólica e a lipodistrofia, distúrbios frequentemente vistos em PVHA, são outros fatores ligados a níveis mais elevados de citocinas inflamatórias, tais como o TNF- $\alpha$

que, por sua vez, acarreta intolerância à glicose e resistência insulínica, propiciando o aparecimento da DM.

Embora o impacto da DM nas taxas de mortalidade e causas específicas de óbito em PVHA seja pouco estudada na literatura, dados dos estudos SMART e SPIRIT combinados mostraram que a DM foi uma preditora independente de morte após um evento não relacionado à AIDS <sup>15</sup>. Na colaboração DAD a DM foi um fator para o aumento do risco de todas as causas específicas de mortalidade em PVHA exceto cânceres não relacionados à AIDS <sup>44</sup>.

Neste contexto, estratégias para a detecção precoce de DCV clínica poderiam reduzir a morbimortalidade em pessoas vivendo com HIV/AIDS com DM. Além disso, a detecção da aterosclerose subclínica, por exemplo, pela mensuração da Velocidade da Onda de Pulso (VOP) como veremos mais adiante, poderia levar à prevenção primária mais eficaz em alguns pacientes com DM <sup>35</sup>.

O Brasil constitui um cenário único, pois é um país continental de baixa renda, onde a TARV tornou-se disponível de forma gratuita e universal desde 1996. Nosso grupo reportou anteriormente o surgimento de DM e DCV como causa de morte em PVHA <sup>24; 26</sup>. No entanto, poucos estudos investigaram as consequências da DM em grandes grupos de pessoas vivendo com HIV/AIDS.

## **EFEITO DOS ANTIRRETROVIRAIS NA DESREGULAÇÃO METABÓLICA**

Alguns esquemas de TARV têm sido implicados na indução de lipodistrofia que, por sua vez, promove a dislipidemia e a resistência insulínica <sup>45</sup>. A dislipidemia induzida pelo HIV e pela

TARV foi melhor ilustrada em dados do estudo MACS, uma série de homens que apresentaram soroconversão para o HIV e que posteriormente foram submetidos à TARV <sup>46</sup>. Neste estudo, o HIV foi associado à redução dos níveis de colesterol total, LDL-colesterol e HDL-colesterol, enquanto o início da TARV foi associado a dislipidemia, com elevação do colesterol total, do LDL-colesterol, de triglicérides e redução do HDL-colesterol.

Entre os diversos estudos que abordaram a dislipidemia nos PVHA, um estudo recente avaliou os efeitos de cada antirretroviral no perfil lipídico, analisando os resultados de 15 ensaios clínicos para calcular o efeito da TARV de primeira linha nos lipídios após 48 semanas de tratamento. Os maiores aumentos do colesterol total ocorreram com Fosamprenavir/Ritonavir, Lopinavir/Ritonavir e Efavirenz, em combinação com um Inibidor de Transcriptase Reversa Análogo de Nucleosídeos (ITRN) sem Tenofovir.

Em geral, os esquemas contendo Tenofovir tiveram um efeito protetor moderado. Entre os pacientes recebendo Tenofovir, o colesterol total foi maior com Lopinavir/Ritonavir do que com Atazanavir/Ritonavir ou Fosamprenavir/Ritonavir. Assim, as disfunções observadas com a infecção pelo HIV e a TARV sugerem um cenário em que o excesso de disponibilidade sistêmica de colesterol e a redução na sua depuração por monócitos e macrófagos produzem uma dislipidemia específica que pode contribuir para a aterosclerose acelerada e para o aumento do risco de DCVs, especialmente em uma coorte em envelhecimento.

O risco de DM também está aumentado com a TARV. No *Veterans Aging Cohort Study*, o uso de ITRN e ITRNN foi associado ao maior risco de diabetes <sup>13</sup>. Em uma coorte de pacientes da Suíça, a incidência de novos casos de DM foi de 4,4/1000 pessoas-ano e, entre outros fatores,

os tratamentos com esquemas contendo um inibidor da protease (IP) e um ITRN foram associados a maior risco <sup>47</sup>. No estudo DAD, a incidência de diabetes (5.72/1.000 pessoas-ano) aumentou com a exposição cumulativa à TARV, uma associação que permaneceu significativa mesmo após o ajuste para possíveis fatores de risco para diabetes. A relação mais forte foi com exposição à Estavudina porém, exposições à Zidovudina e à Didanosina também foram associadas a um risco aumentado de diabetes <sup>39</sup>.

Esta contribuição para a desregulação da glicose passa por mecanismos de indução de lipodistrofia e efeitos tóxicos mitocondriais, no caso de alguns ITRN, além de inibição do transportador da glicose, no caso de alguns IPs <sup>48;49</sup>.

## **FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR TRADICIONAIS EM PVHA**

Conforme exposto, a DM é uma comorbidade cada vez mais presente em PVHA na era da TARV. Estudos recentes apontam uma prevalência aumentada da DM e resistência insulínica em PVHA <sup>38; 39</sup>. Fato relevante, pois é um componente importante dos fatores de risco tradicionais para o desenvolvimento de DCV e suas complicações, o que explica cerca de 80% da mortalidade em indivíduos com DM <sup>30</sup>. O mecanismo pelo qual o aparecimento de hiperglicemia parece acelerar a aterosclerose, possivelmente se dá por aumento da formação de proteínas glicosiladas e produtos finais de glicação avançada promovendo a disfunção endotelial e consequentemente, contribuindo para a DCV <sup>35</sup>.

Para determinar se a DM também poderia funcionar como um risco equivalente de DCV em pessoas vivendo com HIV/AIDS, pesquisadores da colaboração DAD compararam PVHA sem DM ou DCV preexistente no início do estudo, o risco de um novo evento coronariano

em pacientes com DM, mas sem DCV preexistente foi de 3,03 (IC 95%, 2,34-3,93; P = 0,001), enquanto que o risco de um evento coronariano recorrente foi 9,04 (IC 95%, 7,10-11,49; P = 0,0001) em pacientes com DCV pré-existente e sem DM.

Com diferenças relativas a outros estudos que demonstraram ser a DM um fator de risco equivalente para DCV, deve-se manter em mente a sua importância como um fator preponderante para DCV em pessoas vivendo com HIV/AIDS <sup>50</sup>.

Apesar dos benefícios vistos com o uso da TARV, a maioria dos PVHA permanecem com maior morbimortalidade em comparação a pacientes não infectados. A infecção pelo HIV tem sido associada a um aumento de até 50% no risco de IAM, mesmo após levarmos em conta o ajuste para fatores de risco cardiovascular já conhecidos <sup>51</sup>.

O mecanismo é provavelmente multifatorial, porém o que observamos muitas vezes é uma maior prevalência dos fatores de risco tradicionais. Em regiões como Europa e EUA, por exemplo, as taxas de tabagismo entre PVHA são mais elevadas do que aquelas entre indivíduos não infectados, chegando a 70% em algumas coortes. Por exemplo, entre 5.427 PVHA do estudo SMART que abrangeu 33 municípios de renda predominantemente alta, a taxa de tabagismo foi de 40,5% <sup>52</sup>. Uma taxa ainda maior (51,5%) foi encontrada entre os 17.852 pacientes inscritos na colaboração DAD <sup>53</sup>. Em contraste, no Brasil, a prevalência global de tabagismo entre adultos e adolescentes se encontra em torno de 13% <sup>54</sup>.

Em relação a outros fatores de risco, a partir de dados coletados de dois grandes hospitais nos EUA, observou-se diferenças substanciais nos perfis de risco cardiovascular em PVHA comparados a indivíduos não infectados. Entre os PVHA, foi encontrada maior prevalência de

tabagismo (38 vs 18%), hipertensão (21 vs 16%), diabetes (12 vs 7%) e dislipidemia (23 vs 18%)<sup>12</sup>. Taxas semelhantes foram encontradas em uma rede de saúde no norte da Califórnia<sup>44</sup>.

O impacto da DCV também parece ser maior entre os pacientes mais jovens e de menor risco.<sup>55</sup> Entre os participantes da coorte US VACS, a taxa de incidência de IAM foi maior nos pacientes entre 30 e 39 anos<sup>51</sup>. Outra análise de indivíduos hospitalizados por síndrome coronariana aguda em um centro terciário dos EUA também mostrou que PVHA eram mais jovens e com escores de risco para IAM mais baixos do que os controles não infectados<sup>56</sup>.

Apesar do importante papel que os fatores de risco tradicionais exercem para o maior risco de DCV nos PVHA, o mecanismo ainda não está totalmente compreendido. Estudos adicionais apontam que outros fatores também podem estar implicados. Por exemplo, a análise dos dados da *Partners Health Care System* indicou que o ajuste para fatores de risco tradicionais atenua o risco relativo de IAM em PVHA em comparação aos não infectados<sup>12</sup>. O risco relativo cai de 2,45 na infecção pelo HIV quando se considera apenas a idade e sexo para 1,75 quando se considera fatores de risco demográficos e tradicionais (idade, sexo, raça, HAS, DM e dislipidemia).

Da mesma forma, quando os pesquisadores do estudo DAD ajustaram sua análise de risco de IAM para dislipidemia, o risco relativo associado aos antirretrovirais caiu de 1,16 para 1,10 ao ano. Em um estudo DAP, a infecção pelo HIV foi associada a menor índice tornozelo-braquial, um marcador desta patologia, mesmo após o ajuste para os fatores de risco cardiovascular tradicionais<sup>57</sup>.

No Brasil, um estudo conduzido por nosso grupo mostrou que os fatores de risco tradicionais foram mais importantes que os ligados à infecção pelo HIV para explicar o aumento na espessura da íntima média da carótida (cIMT) em uma população de PVHA<sup>58</sup>. Resultados que foram corroborados quando se comparou uma coorte de PVHA no Rio de Janeiro com duas outras não infectadas pelo HIV. Além de não haver diferença nos grupos em relação à cIMT, os fatores de risco tradicionais foram associados a esse desfecho<sup>59</sup>.

Esses dados sugerem que algumas variáveis ainda não medidas, e que devem ser estudadas, podem desempenhar um papel significativo no risco de DCV em pacientes com HIV/AIDS, entre eles, a própria infecção pelo HIV. No entanto, parece que os fatores de risco tradicionais são preponderantes.

## **FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR LIGADOS AO HIV**

A função endotelial, link mais plausível entre infecção, inflamação e aterosclerose, tem sido investigada desde o começo da epidemia pelo HIV<sup>60</sup>. A infecção pelo HIV induz um estado pró-inflamatório apesar da disfunção imunológica, ou seja, da baixa contagem de CD4+, contribuindo para aumento tanto da mortalidade global quanto da mortalidade por DCV. Uma análise do estudo *Veterans Aging Cohort* que incluiu 27.350 pacientes com infecção pelo HIV foi comparada com 55.109 pacientes não infectados pelo HIV dos Hospitais da *US Veterans Affairs*, encontrando um risco de IAM de aproximadamente 1,5 vezes maior em pacientes infectados com HIV. Alta carga viral e baixa contagem de células CD4+ foram associadas ao aumento do risco



<sup>51</sup>.Em outra análise que incluiu vinte e três coortes de PVHA, a carga viral plasmática elevada foi associada com uma chance quase 4 vezes maior de mortalidade por DCV<sup>61</sup>.

Pacientes com infecção ativa pelo HIV que nunca fizeram uso da TARV apresentam níveis elevados de marcadores inflamatórios e imunes circulantes<sup>62</sup> e já foi demonstrado que o aumento da aterosclerose na infecção pelo HIV pode ocorrer na ausência de TARV, carga viral detectável ou imunodeficiência evidente <sup>63</sup>.

A inflamação crônica, que persiste mesmo após início da terapia antirretroviral, é atribuída como responsável por contribuir para a aterosclerose precoce nestes pacientes. Entre os fatores que explicam a ativação persistente do sistema imune estão os reservatórios de replicação do HIV, a translocação bacteriana no trato gastrointestinal com a perda da barreira mucosa e a presença de coinfeções como por Citomegalovírus e Hepatite C <sup>62</sup>.

É evidente o aumento de citocinas pró-inflamatórias: (1) proteínas de fase aguda, como Interleucina 6 (IL-6) e Proteína C Reativa (PCR); (2) marcadores de ativação de monócitos, como CD163 solúvel, CD14 solúvel e a proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP-1); (3) marcadores de inflamação arterial, o Fator de Ativação Plaquetário (PAF); (4) receptores de citocinas (Fator de Necrose Tumoral-TNF) (5) marcadores de adesão de leucócitos tais como a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) e a molécula de adesão celular-vascular 1 (VCAM-1) e (5) produtos de degradação da fibrina (d-dímero). No geral, estes marcadores se mostram mais elevados em relação aos controles sem infecção pelo HIV e associados a disfunção vascular e DAC subclínica<sup>64</sup>, sendo responsáveis por contribuir no processo de aterosclerose <sup>65</sup>.

A disfunção imunológica evidenciada pelo nadir da contagem de células CD4+ também pode desempenhar um papel no desenvolvimento da DCV. Por exemplo, Ho e colaboradores <sup>66</sup> avaliaram a rigidez arterial em pacientes com supressão viral que iniciaram a TARV no prazo de 6 meses após o diagnóstico de HIV em relação àqueles que não o fizeram. O nadir da contagem de células CD4+ < 350 células/mm<sup>3</sup> foi associado ao aumento da rigidez arterial, um marcador indireto de DCV. Estes achados sugerem que o início precoce da TARV poderia diminuir o risco cardiovascular através do controle da resposta inflamatória.

### **TARV E REDUÇÃO DO RISCO CARDIOVASCULAR**

Apesar da preocupação inicial de que alguns esquemas da TARV pudessem aumentar o risco de DCV, evidências sugerem que o início precoce e contínuo da TARV pode, na verdade, reduzir o risco de morte, inclusive a ocasionada por DCV. Essa mudança de paradigma começou a ganhar impulso com os resultados do estudo SMART <sup>67</sup>. Este ensaio clínico randomizado sobre TARV contínua *versus* intermitente encontrou um aumento da taxa de eventos cardiovasculares no grupo de terapia intermitente, achado que corrobora a possibilidade de que a viremia descontrolada, muitas vezes acompanhada por altos índices inflamatórios, atua como mediador para o risco de DCV em pessoas vivendo com HIV/AIDS. O estudo confirmou o menor risco de eventos cardiovasculares em pacientes com supressão viral sustentada <sup>68</sup>, relacionando a inflamação como possível mediador das DCVs na infecção pelo HIV tratada e não tratada. Outra análise do estudo SMART demonstrou que os marcadores de inflamação e coagulação (IL-6 e D-dímero) aumentaram um mês após a interrupção do tratamento e que esses aumentos foram proporcionais ao aumento da carga viral <sup>69</sup>. A razão de chances ajustada indicou que os níveis

iniciais de IL-6 e de D-dímero aumentaram o risco de todas as causas de mortalidade cerca de 12 e 41 vezes, respectivamente.

Mais recentemente, resultados de outros dois grandes estudos randomizados (START e Temprano) mostraram que, quando a TARV é iniciada imediatamente ou com uma contagem de CD4+ em torno de 500 células/mm<sup>3</sup>, há redução no número de eventos sérios relacionados ou não ao vírus e de morte comparado à estratégia de aguardar até que a contagem de células CD4 esteja mais baixa para iniciar tratamento. No caso do estudo START, a avaliação de desfechos incluiu eventos graves como o câncer relacionado à AIDS e eventos não relacionados à AIDS (cardiovascular, renal, hepático e câncer). Entretanto, quando se analisa os eventos cardiovasculares isoladamente, o resultado não foi significativo <sup>70; 71</sup>. Conseqüentemente, as novas diretrizes já recomendam iniciar TARV em todos os pacientes com infecção confirmada pelo HIV, independentemente da contagem de CD4 <sup>72</sup>, mas a comprovação de que a TARV reduz o risco de DCV ainda precisa ser demonstrada.

## **RIGIDEZ ARTERIAL E VELOCIDADE DA ONDA DE PULSO (VOP)**

A pressão necessária para promover a mudança de uma unidade de volume é conhecida como rigidez arterial, uma propriedade dos vasos sanguíneos. Geralmente é medida por sua complacência, distensibilidade e velocidade de onda de pulso com técnicas como ultrassonografia, ressonância e forma de onda arterial, a maioria ainda de forma experimental, se tornando cada vez mais importante como parte da avaliação do risco cardiovascular. As alterações podem ser detectadas antes das manifestações de doença arterial coronariana (DAC),

indicando que a rigidez arterial pode ser um útil marcador subclínico.

Dentre os diferentes métodos para avaliação da rigidez arterial, a VOP tem o melhor valor preditivo para desfecho cardiovascular e, pela facilidade de sua medição e reprodutibilidade, a VOP carotídeo-femoral é considerada atualmente o padrão-ouro para avaliação da rigidez arterial na prática diária<sup>73</sup>. É calculada medindo-se o tempo necessário para que a forma de onda arterial passe entre dois pontos, fazendo-se leituras a partir dos dois locais ao mesmo tempo ou registrando-se gravações separadas em um ponto fixo no ciclo cardíaco, geralmente a onda R do ECG. Quanto menor a VOP, mais distensíveis e elásticas são as artérias.

Os componentes da matriz extracelular, especificamente a mistura de elastina e colágeno na parede dos vasos, determinam as propriedades mecânicas passivas das grandes artérias. O decréscimo da elasticidade arterial com o envelhecimento decorre tanto da perda como da desorganização desta rede de fibras elásticas na parede vascular<sup>74</sup>. Consequentemente, observamos o aumento da rigidez arterial medida pela VOP associada à idade. No entanto, este aumento também está presente em alguns estados de doença por si só associados ao aumento do risco cardiovascular como hipertensão, DM, dislipidemia e insuficiência renal, indicando que esta perda de elastina com subsequente dano endotelial seja um marcador ou esteja diretamente envolvida no desenvolvimento da aterosclerose<sup>75</sup>.

Também existe uma dependência entre a VOP e os níveis de pressão arterial. Devido à redução da complacência arterial com o aumento da pressão e do volume, conforme a artéria se dilata, há um aumento na VOP que é de aproximadamente 1m/s para cada aumento de 10 mmHg na pressão arterial<sup>76</sup>.

Embora o valor da VOP como marcador de risco esteja bem estabelecido, a falta de uma padronização na sua medida tem impedido seu maior uso na prática médica. Neste sentido, internacionalmente foram feitos esforços para se estabelecer um consenso na realização do exame, estabelecendo-se um valor de corte de 10m/s para o diagnóstico da rigidez arterial. No entanto, este valor de corte ainda é questionável por não ser amplamente validado, o que faz com que os autores geralmente usem como critério para rigidez arterial um valor da VOP acima do percentil de 75 % da população do estudo <sup>73</sup>.

O valor adicional da VOP aos fatores de risco tradicionais, incluindo os escores de risco de Framingham e SCORE, foram quantificados em diversos estudos <sup>77; 78</sup> confirmando que a rigidez arterial é um preditor independente de eventos coronarianos e acidente vascular cerebral (AVC).<sup>79</sup> O estudo Rotterdam incluiu 2.835 indivíduos saudáveis na sua terceira fase de análise e a rigidez arterial foi medida pela VOP.

Durante o acompanhamento, 101 indivíduos desenvolveram DAC em período de seguimento de 4,1 anos e 63 indivíduos desenvolveram AVC em período de seguimento de 3,2 anos. Após ajuste para idade, sexo, pressão arterial média e frequência cardíaca as razões de risco para DAC foram 1,72 e 2,45 para o segundo e terceiro tercís respectivamente. Estimativas correspondentes para AVC foram 1,22 e 2,28, aumentando conforme a elevação da VOP <sup>79</sup>.

Adicionalmente, uma recente meta-análise, que incluiu 17 estudos longitudinais que avaliaram a VOP em 15.877 pacientes com acompanhamento médio de 7,7 anos, encontrou um aumento de eventos cardiovasculares, mortalidade cardiovascular e mortalidade por todas as causas de 2,26, 2,02 e 1,90, respectivamente. Um aumento de 1m/s na VOP correspondeu a um

aumento de 15% no risco <sup>80</sup>.

Diversos estudos demonstraram um aumento da prevalência de aterosclerose subclínica em PVHA comparados a indivíduos não infectados. Tais medidas incluem a cIMT <sup>81</sup>, a calcificação da artéria coronária e placas arterioscleróticas pela Angiotomografia Computadorizada (angio-TC)<sup>82</sup> e a VOP. Estas medidas foram associadas ao desenvolvimento de aterosclerose coronariana e futuro risco de DCV.

Em pessoas vivendo com HIV/AIDS, a rigidez arterial foi associada com o nadir da contagem CD4+ <sup>83</sup> e se apresenta aumentada em indivíduos recebendo TARV incluindo um inibidor da protease <sup>84; 85; 86</sup>. Este aumento, no entanto, também está presente em indivíduos infectados que não estão em uso de antirretrovirais, o que contribui para a hipótese de que o vírus em si também esteja envolvido no aumento da rigidez arterial <sup>87</sup>. No Brasil, apesar dos dados serem escassos e não termos um valor de corte para a VOP, um estudo realizado em 2012 não identificou diferenças na VOP entre PVHA e indivíduos saudáveis<sup>88</sup>, havendo necessidade de mais estudos para explorar esta associação.

## **FUNÇÕES DE RISCO APLICADAS EM PVHA**

É frequentemente um desafio quando o médico se depara na sua prática clínica com questões relacionadas ao diagnóstico e prognóstico. Da posse de algumas informações sobre o paciente, é necessário saber como isso se relaciona com o seu verdadeiro estado atual (diagnóstico) ou futuro (prognóstico). Esta informação pode ser obtida a partir de um teste diagnóstico ou de um modelo estatístico preditivo. Este último inclui variáveis ou características

do indivíduo que chamamos preditoras e é aplicado ao modelo gerando seu risco absoluto para determinado desfecho <sup>89</sup>, também chamadas funções de risco.

Uma função de risco combina informações do indivíduo como por exemplo sexo, idade, pressão arterial sistólica e tabagismo, sendo estas posteriormente relacionadas através da construção de uma equação matemática utilizando essencialmente técnicas de regressão. Como resultado, obtém-se um determinado valor percentual que prediz uma estimativa para o desenvolvimento de um desfecho em saúde, durante um determinado período de tempo <sup>90</sup>.

Estas estimativas de risco tornaram-se muito úteis na prática clínica, auxiliando a tomada de decisão para intervenções ou orientando tratamentos em indivíduos assintomáticos com a finalidade de prevenir a ocorrência de uma doença, algumas delas sendo incorporadas em diretrizes de prevenção primária <sup>91</sup>.

Os passos portanto para a formulação e avaliação de um modelo de risco cardiovascular são: (1) um componente claramente definido de um evento que seja de relevância clínica e interesse tais como IAM ou morte coronária; (2) um conjunto claramente definido de indivíduos que é a população sob risco, por exemplo, aqueles livres de DCV; (3) um tempo selecionado para seguimento; (4) um conjunto bem definido e possível de fatores de risco, tais como pressão arterial sistólica, colesterol total e tabagismo; (5) um modelo estatístico para relacionar os fatores de risco para o desenvolvimento da doença e (6) a capacidade do modelo para produzir estimativas de risco, tais como riscos relativos e absolutos.

No nosso caso, não pretendemos criar uma nova ferramenta para avaliar o risco cardiovascular, mas comparar na nossa realidade, os valores preditos por três escores risco que

selecionamos por ordem de importância devido seu uso na prática clínica. O primeiro é o escore de Framingham, com versão de 2008 e inclui as variáveis idade, sexo, LDL-colesterol, HDL-colesterol, pressão arterial, DM e tabagismo.<sup>92</sup> O risco é considerado baixo quando o escore é inferior a 10%, intermediário quando entre 10 e 20% e alto quando é superior a 20%.<sup>93</sup> O segundo escore a ser estudado será o *The Data Collection on Adverse events of Anti-HIV Drugs* (DAD) ou escore DAD, desenvolvido para o cálculo do risco cardiovascular específico para PVHA, deixa de fora a terapêutica anti-hipertensiva utilizada no Framingham, mas adiciona outros fatores na equação: (1) o tempo de uso de Indinavir ou Lopinavir e o tratamento atual com Indinavir, Lopinavir, ou Abacavir, (2) tabagismo, (3) DM e (4) história familiar de DCV. A ferramenta DAD prevê o risco de DCV em 5 anos, considerando um risco abaixo de 1% como baixo, de 1% a 5% moderado, de 5% a 10% elevado e acima de 10% muito alto<sup>94; 95</sup>.

A última função de risco a ser avaliada será a *Pooled cohort equations* para prever o risco de doença cardiovascular aterosclerótica (ASCVD). Esta última equação de risco teve seu desenvolvimento recente em conjunto com as novas diretrizes de prevenção primária lançadas em 2013 pelo *American College of Cardiology* (ACC) e pela *American Heart Association* (AHA), resultando na criação do *ACC/AHA Pooled Cohort Equations Risk*. Foi derivada, com o objetivo de avaliar o risco de doença cardiovascular aterosclerótica (ASCVD) em 10 anos<sup>96</sup>.

A inclusão da raça como uma característica é um ponto forte, pois permitiu uma melhor classificação do risco, especialmente em indivíduos afroamericanos<sup>97</sup>. As novas diretrizes da AHA/ACC recomendam o uso de estatina em indivíduos com um risco de eventos cardiovasculares maior que 7,5% calculado pela equação.



Como em PVHA, ainda não existem informações suficientes na literatura quanto a validade destes escores. Este estudo propõe de forma secundária a um dos objetivos específicos, mensurar os valores preditos destes escores de risco para DCV comparando com a taxa observada de eventos cardiovasculares durante o período de acompanhamento e, com isso, apontar a necessidade de refinar o uso destes escores de risco para prevenção primária de DCV através de sua validação formal.

## **2. JUSTIFICATIVA**

Conforme exposto anteriormente, PVHA estão sob risco aumentado de desenvolver DM e DCVs, este último devido à maior prevalência de fatores de risco cardiovasculares, alterações metabólicas relacionadas à TARV, incluindo a própria DM e ativação crônica do sistema imune que promove inflamação endotelial e aterosclerose. Com o envelhecimento desta população após os avanços no tratamento, entender a epidemiologia da DM e os mecanismos de DCV em pessoas vivendo com HIV/AIDS torna-se cada vez mais importante, principalmente no Brasil onde existe uma escassez de estudos nesta área. Além do mais, as consequências da DM na taxa de mortalidade e nas causas de óbito e o papel dos fatores de risco para DCV em PVHA em países de média renda como o Brasil permanece pouco estudada.

Existe pouca informação na literatura sobre como as PVHA no Brasil se apresentam em relação à incidência de DCV e ao comprometimento do endotélio vascular, medido por alterações na VOP, assim como à possível contribuição de fatores de risco ligados ou não ao HIV promovendo estas alterações. Adicionalmente, dos vários modelos preditivos de risco

cardiovascular, há poucos dados disponíveis na literatura quanto à melhor abordagem para PVHA. Diferenças demográficas e geográficas podem fazer com que os escores de risco funcionem de forma diferente nas PVHA no Brasil.

O projeto é inovador no sentido de ser o primeiro no país a estudar as consequências da DM na mortalidade de PVHA e analisar a VOP como marcador subclínico de DCV em pessoas vivendo com HIV/AIDS. Além disso, propomos comparar as medidas dos escores de risco para prevenção primária de DCV trazendo sua aplicação para a realidade da população brasileira. O projeto tem então significância no campo da infectologia e da saúde pública pois daremos contribuição importante para o conhecimento das taxas de mortalidade e causas de óbito na presença da DM e da associação entre a infecção pelo HIV e as consequentes alterações no endotélio vascular e aparecimento de DCV, apontando um caminho para medidas preventivas que possam reduzir a morbimortalidade cardiovascular em pessoas vivendo com HIV/AIDS.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

O objetivo geral deste estudo é:

→ **Estudar a associação da DM com mortalidade e fatores associados à DCV em uma coorte de PVHA.**

### **3.2 Objetivos específicos e Hipóteses correspondentes:**

Objetivo específico #1

→ **Descrever e comparar as taxas de mortalidade e causas de óbito de acordo com a presença de DM em PVHA**

Hipótese #1a

→ **DM está associada a maior taxa de mortalidade em PVHA.**

Hipótese #1b

→ **Nas PVHA, existem padrões de mortalidade específicos que são diferentes entre aqueles com DM quando comparados aos sem DM.**

Objetivo específico #2

→ **Descrever e comparar fatores associados em três grupos de pacientes: um infectado pelo HIV e outros dois não infectados pelo HIV, em relação à rigidez arterial, avaliados através da VOP.**

Hipótese #2a

→ **Em PVHA, existe uma maior rigidez arterial medida pela VOP quando comparados a outras duas populações não infectadas pelo HIV.**

Hipótese #2b

→ **Há uma relação positiva entre fatores ligados à infecção pelo HIV e VOP.**

Objetivo específico#3

- **Calcular a incidência e investigar os fatores associados à DCV em uma coorte de PVHA e secundariamente avaliar os escores de risco cardiovascular mais utilizados atualmente.**

Hipótese #3a

- **Existem fatores relacionados ou não à infecção pelo HIV que estão associados com o desenvolvimento da DCV em PVHA no Brasil**

Hipótese #3b

- **Em PVHA no Brasil, existem diferenças entre os valores observados para DCV e valores preditos pelos escores de Framingham, DAD e ASCVD.**

#### **4. METODOLOGIA**

Embora termos escolhido apresentar os resultados no formato de artigo, com cada um deles contendo sua respectiva seção de métodos, optamos por expandir a descrição de algumas ferramentas utilizadas assim como caracterizar melhor a população estudada e as análises empregadas, pois a própria limitação do conteúdo do artigo impediria uma melhor compreensão do leitor sobre a metodologia proposta. Optamos então por descrevê-la de acordo com cada objetivo específico, com sua população, desenho e análise estatística correspondentes. Esta abordagem também visa dar mais clareza na caracterização do projeto, já que uma mesma metodologia poderá ser aplicada a mais de um objetivo específico, como veremos adiante. A análise dos pressupostos de cada modelo, assim como o a análise de resíduos, podem ser visualizadas em seus respectivos anexos.

#### **4.1 OBJETIVO ESPECÍFICO # 1**

Para estudar as diferenças nas taxas de mortalidade e causas de óbito, de acordo com presença ou não da DM, utilizamos uma coorte de PVHA atendidos em um centro de referência em doenças infecciosas no Rio de Janeiro. Foram incluídas todas as PVHA maiores de 18 anos, com um acompanhamento mínimo de 60 dias e com seguimento de janeiro de 1991 a dezembro de 2011.

Nesta seção, porém, descreveremos apenas a população do estudo de forma mais abrangente, já que esta será utilizada também em outros objetivos específicos.

#### **POPULAÇÃO DO ESTUDO**

Coorte do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas – INI

Esta coorte é constituída por pacientes com HIV/AIDS atendidos no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. Foram cadastrados, a partir de 1986, aproximadamente 4.000 pacientes residentes na região metropolitana do Rio de Janeiro que são encaminhados por unidades de saúde públicas ou particulares. Destes, cerca de 2.400 encontravam-se em acompanhamento ativo no início do ano de 2012 e 1.200 pacientes iniciaram uso de TARV entre 1 de janeiro de 1997 e 31 de dezembro de 2009.

Atendimento em infectologia e outras especialidades clínicas, exames laboratoriais e hospitalização são disponibilizados de forma integrada. A carga viral do HIV e a contagem de células CD4+ são mensuradas a cada 4-6 meses como parte do atendimento regular dos

pacientes. A contagem de linfócitos T CD4+/CD8+ é realizada por citometria de fluxo. A quantificação da carga viral do HIV é realizada pela metodologia Real Time PCR, com limite mínimo de detecção de 40 cópias/ml. Esses exames são realizados 2-3 vezes/ano.

O critério diagnóstico para o HIV segue as últimas recomendações do Ministério da Saúde que prevê a existência de dois testes de triagem reagentes ou um confirmatório para detecção de anticorpos anti-HIV e o critério diagnóstico para AIDS segue os últimos critérios do CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) adaptado que inclui indivíduos de 13 anos ou mais infectado pelo HIV com evidência de imunodeficiência: diagnóstico de pelo menos uma doença indicativa de AIDS e/ou contagem de linfócitos T CD4+ <350 células/mm<sup>3</sup>.

O tratamento antirretroviral é realizado seguindo as recomendações do Ministério da Saúde para adultos e adolescentes, periodicamente revisado por um grupo de especialistas na área. A profilaxia e tratamento das infecções oportunistas também seguem as recomendações do Ministério da Saúde. A partir de 1998, teve início a construção da base de dados desta coorte.

Dados sociodemográficos, epidemiológicos, clínicos (consultas ambulatoriais e internações), uso de antirretrovirais e medicamentos concomitantes, laboratoriais e de outros exames complementares são sistematicamente coletados, de forma retrospectiva, dos prontuários médicos. Informações acerca dos óbitos também são coletadas através dos prontuários médicos, uma vez que a maioria dos pacientes falece na própria instituição. Adicionalmente, os dados de óbito do SIM são periodicamente revistos em busca de informações dos pacientes que não comparecem às consultas médicas por um período acima de 6 meses. Dentre os dados clínicos coletados estão: os eventos clínicos associados e os não associados ao HIV/AIDS (comorbidades cardiovasculares, renais, hepáticas, neoplásicas, sinais e sintomas vinculados ao HIV/AIDS), as

combinações de tratamento antirretroviral e eventos adversos associados a esses esquemas e os valores da contagem de células CD4+ e da carga viral do HIV. Este trabalho é realizado por uma equipe de técnicos especializados e treinados que trabalham sob a supervisão de um infectologista.

A coleta de dados é realizada em formulários anteriormente validados e, a partir de 2006, foram incluídos nos formulários os dados clínicos específicos para verificar a presença dos seguintes eventos cardiovasculares: insuficiência cardíaca congestiva (ICC), IAM, angina, DAP e AVC. Amostras consecutivas dos formulários preenchidos são continuamente revisadas pelos supervisores para o controle de qualidade.

A equipe responsável pela base de dados, composta por pesquisadores clínicos, estatísticos e gerentes de dados, realiza encontros regulares para resolver eventuais problemas técnicos, estabelecer consensos e redefinir periodicamente a agenda de pesquisa e atividades futuras relacionadas a esta base de dados. Todos os procedimentos são realizados de acordo com os princípios de Declaração de Helsinki e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Clínica Evandro Chagas. (043/2010, 0032.0.009.000-10) .

## **4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO #2**

Para investigar diferenças e fatores associados à rigidez arterial, comparamos os dados da VOP em três diferentes grupos de indivíduos em um delineamento transversal. O primeiro grupo foi composto por 649 participantes da Coorte ELSA-INI descrita a seguir. O segundo grupo consistiu de 106 voluntários HIV-negativos que foram nomeados pelos pacientes do primeiro

grupo e o terceiro grupo incluiu os 15.105 participantes do estudo ELSA-Brasil, que também será descrito a seguir. A população estudada assim como os procedimentos comuns serão descritos de forma mais detalhada abaixo.

## POPULAÇÃO DO ESTUDO

### Coorte ELSA-INI

Dentre os participantes da coorte do INI, uma amostra representativa de 649 participantes foi selecionada dentre todos os pacientes ativos em 2012. Esses pacientes foram selecionados a partir de quotas estabelecidas por sexo (masculino e feminino) e faixa etária (de 10 em 10 anos de 25 a 75 anos de idade), de acordo com as distribuições conhecidas do total da coorte que era de 2.372 pacientes ativos. A escolha dessa técnica foi baseada em critérios operacionais, visando garantir a inclusão dessas subcategorias.

### Elegibilidade da coorte ELSA-INI

#### Critérios de inclusão

- Homens e mulheres com idade entre 25 e 75 anos.
- Infecção pelo HIV comprovada.
- Acompanhamento no ambulatório de infectologia do INI.
- Pelo menos 2 consultas no ambulatório de HIV/AIDS nos 6 meses anteriores à inclusão.
- Ausência de DCV no momento da inclusão no estudo.



## Critérios de exclusão

- Mulheres grávidas ou que tenham tido gravidez terminada nos últimos 4 meses (inelegibilidade temporária).
- Perspectiva de mudança de cidade pelo paciente e/ou inter rompimento do seu acompanhamento na instituição.

## Coorte de Voluntários HIV-negativos

Além dos pacientes infectados pelo HIV, incluímos no estudo um grupo de 102 voluntários HIV-negativos “amigos” dos indivíduos da coorte ELSA-INI. Este grupo de participantes HIV-negativos foi recrutado a partir de indicação de um participante HIV-positivo, podendo ser o seu/sua parceiro/a, cônjuge, familiar, colega de trabalho ou alguém que resida na vizinhança. Incluímos os primeiros indicados que aceitem participar, independente de faixa etária ou sexo. Os critérios de inclusão e de exclusão para este grupo estão relacionados abaixo.

## Elegibilidade da coorte Voluntários HIV negativos

### Critérios de inclusão

- Homens e mulheres com idade entre 25 e 75 anos.
- Parceiro/a, cônjuge, familiar, colega de trabalho ou alguém que resida na vizinhança de um participante do ELSA-INI.
- Teste rápido anti-HIV negativo no momento da entrada no estudo.

### Critérios de exclusão

- Qualquer condição que, na opinião do investigador do estudo, pode tornar a participação no estudo insegura, dificultar ou impossibilitar a interpretação dos resultados do estudo, ou interferir no alcance dos objetivos do estudo.
- Mulheres grávidas ou que tenham tido gravidez terminada nos últimos 4 meses (inelegibilidade temporária).
- Participação no projeto ELSA-Brasil

#### Coorte ELSA-BRASIL

O Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – ELSA-Brasil – é um estudo multicêntrico nacional com 15.105 funcionários públicos de universidades e um instituto de pesquisa localizados em diferentes regiões do Brasil: as Universidades Federais de Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul, a Universidade de São Paulo e a Fundação Oswaldo Cruz. Tem por objetivo investigar a incidência e os fatores de risco para doenças crônicas, em particular as cardiovasculares e a DM <sup>98</sup>.

A primeira onda de exames ocorreu entre 2008 e 2010. Anualmente é realizado contato telefônico e o segundo seguimento foi feito entre 2012 e 2013.

#### Elegibilidade da coorte ELSA-BRASIL

##### Critérios de inclusão

- Funcionários ativos ou aposentados das 6 instituições acima citadas com idade entre 35 e 74 anos incluídos na primeira onda 2008-2010.

#### Critérios de Exclusão

- Gravidez atual ou recente (< 4 meses antes da primeira entrevista).
- Intenção de parar de trabalhar na instituição em futuro próximo.
- Comprometimento cognitivo ou de comunicação severo.
- Residência fora do centro de estudo correspondente à área Metropolitana quando aposentado.

#### Processo de recrutamento

O processo de recrutamento para este estudo ocorreu em torno de 2011, a partir do conjunto de PVHA que recebem assistência para HIV/AIDS no INI/FIOCRUZ. Os participantes que compareciam ao INI para suas consultas ou para realização de exames complementares foram convidados pelo coordenador do estudo ou por outro membro da equipe a participar deste estudo, enquanto aguardam por suas consultas.

O processo de recrutamento de PVHA obedeceu aos critérios das quotas estabelecidas para cada sexo, de acordo com as faixas etárias. Se o recrutamento de um determinado subgrupo do estudo fosse difícil ou mais lento, a equipe do estudo utilizou outros meios, como o contato por telefone ou aerograma com potenciais participantes. Entretanto, os participantes tinham que obrigatoriamente estar em acompanhamento para o HIV/AIDS na instituição.

## Procedimentos comuns ao ELSA-INI , voluntários HIV-negativos e ELSA-Brasil

Os pacientes que participaram desse estudo já foram recrutados e proveram um termo de consentimento livre e esclarecido, tendo sido o projeto e o respectivo termo aprovados pelo CEP do INI sob o número 0064.0.009.000-10 em 11 de janeiro de 2011. Os procedimentos específicos são descritos a seguir.

As aferições e exames clínicos realizados nos participantes seguiram a metodologia já publicada do estudo ELSA-BRASIL<sup>99</sup>, sendo abaixo detalhados os mais importantes utilizados neste estudo.

### *Entrevista*

A entrevista foi feita com utilização de questionário padronizado envolvendo os seguintes aspectos: idade, sexo, raça/etnia, história de migração, endereço e tempo de residência, história educacional e ocupacional, renda familiar, características e composição do domicílio e da família, religião de criação e de adoção, história conjugal e reprodutiva, escolaridade e ocupação dos pais, rede e apoio social, qualidade de vida, condições de vida na infância, experiências de discriminação, características comunitárias, por exemplo, violência, coesão e capital social, padrões de dieta, consumo de álcool e tabaco, atividade física no trabalho e no lazer, história de peso corporal, autopercepção de saúde, relato de morbidade diagnosticada por médico, história familiar, principalmente condições/fatores de risco cardiovasculares, internações, acidentes de trabalho e de trânsito, vitimização, morbidade e uso de medicamentos atual e recente, transtornos mentais comuns, distúrbios do sono, plano de saúde, uso de serviços de saúde, práticas

preventivas e de detecção precoce de doenças, informações para contato para facilitar acompanhamento futuro.

#### *Medidas antropométricas*

Na seção de antropometria são obtidas as medidas de peso, estatura, circunferências do abdome e quadril. Essas medidas permitirão determinar vários índices de quantidade e distribuição do tecido gorduroso corporal, usados no diagnóstico de obesidade e na avaliação de risco para desenvolvimento de DM e hipertensão arterial.

#### *Medida da pressão arterial (PA)*

A PA foi medida após repouso de cinco minutos, com o participante sentado em ambiente silencioso com temperatura controlada (20-24°C) utilizando-se aparelho oscilométrico validado (Omron HEM 705CPINT). Três medidas foram obtidas em intervalos de um minuto. A média das duas últimas foi considerada como a PA casual.

#### *Coleta de sangue*

A primeira coleta é feita em jejum de 12 horas, imediatamente após a chegada do indivíduo no Centro de Investigação, através de punção em veia do antebraço. Após essa primeira coleta, os indivíduos deverão ingerir uma solução com 75g de glicose e permanecer em jejum até completar o teste padronizado de tolerância à glicose (TTG) duas horas após, quando será obtida nova amostra de sangue. Esse teste é um método sensível para o diagnóstico do diabetes e de hiperglicemias intermediárias.

A coleta é feita a vácuo em volume total de 80 a 100 ml de sangue. Destina-se à realização de exames hematimétricos e bioquímicos iniciais, bem como à aquisição de alíquotas de soro e leucócitos para estocagem, além de extração e armazenamento de DNA.

As dosagens iniciais previstas são consideradas relevantes para os participantes e para o alcance dos objetivos principais do projeto, incluindo hemograma, exames diagnósticos para diabetes (por exemplo, glicose em jejum e teste de tolerância à glicose), creatinina, dosagem de lipídios, hormônios associados ao DM ou à DCV e provas de atividade inflamatória. Esses exames permitem determinar presença de anemia, DM, insuficiência renal, dislipidemia, resistência insulínica e inflamação subclínica.

Exames adicionais em amostras estocadas poderão ser realizados num segundo momento do projeto, ou no futuro quando os desfechos mais importantes já tiverem ocorrido. Isso permitirá a investigação de novos fatores de risco e sua relação com os desfechos estudados.

#### *Velocidade de onda de pulso (VOP)*

A VOP carotídeo-femoral foi medida com aparelho automático validado (Complior, Artech Medicale, França) com o participante deitado em sala com temperatura controlada (20-24°C).-Antes da medida da VOP, a PA era aferida na posição deitada com aparelho oscilométrico validado (Omron HRM 705 CP) no braço direito. A medida da distância da fúrcula do esterno até o pulso femoral direito foi realizada com fita métrica. Não se levou em consideração a curvatura abdominal na medida da distância. Os sensores de pulso eram posicionados nas artérias carótida e femoral direitas, permitindo a visualização das ondas de pulso em tela de computador. Um *software* identifica as ondas de pulso com boa qualidade de registro.

A VOP é calculada dividindo-se a distância da fúrcula até o pulso femoral pela defasagem temporal entre os pulsos carotídeo e femoral. A VOP de cada participante foi calculada pela média aritmética obtida em dez ciclos cardíacos consecutivos em ritmo cardíaco regular.

Os resultados foram armazenados em uma planilha de dados e enviados para o Centro de Investigação ELSA no Espírito Santo em 2012 para sua validação, com exceção de 180 exames que foram coletados posteriormente no documento fonte do estudo no período de 1 de julho de 2015 a 1 de junho de 2016, com o auxílio de alunos de iniciação científica da Fiocruz e então enviados para o Centro de Investigação.

## CONSIDERAÇÕES ESTATÍSTICAS

A análise descritiva geral consistiu em mediana com intervalo interquartil (IQR) para variáveis contínuas e distribuição de frequências com intervalo de confiança de 95% (IC 95%) para as variáveis categóricas. Valores de p inferiores a 5% foram considerados significativos na comparação entre grupos.

Foram descritas e analisadas variáveis sociodemográficas, clínicas, da história médica e dos resultados de exames, dentre elas: raça/etnia, tabagismo, diabetes, pressão arterial sistólica e diastólica (mmHg), uso de medicamentos hipolipemiantes, uso de medicamentos anti-hipertensivos, colesterol total (mg/dl), HDL-colesterol (mg/dl), triglicerídeos (mg/dl), história familiar de IAM, uso de medicamentos antirretrovirais, carga viral plasmática do HIV, categorias de exposição, circunferência de cintura e quadril, resultados de ECG, glicemia além de outras constantes do questionário.

Diferenças no desfecho VOP em m/s entre os pacientes HIV-positivos e os dois grupos HIV-negativos foram avaliadas pelo teste de Kruskal-Wallis e, para variáveis categóricas, o teste de Chi-quadrado ou exato de Fisher, conforme apropriado.

Modelos de regressão linear (com seus correspondentes coeficientes beta e erro padrão) foram utilizados para estudar a associação da VOP com várias covariáveis nos 3 grupos. A fim de escolher o melhor modelo explicativo utilizamos um procedimento exaustivo implementado com um algoritmo genético, incluindo interações de primeira ordem <sup>100</sup>. Avaliamos adequação do modelo linear múltiplo final pela análise de resíduos e pela detecção de *outliers* e pontos influentes.

O ajuste do modelo também foi feito por meio de uma estratégia de escores de propensão que podem ser usados para ajustar o efeito de um tratamento ou intervenção por pareamento, estratificação, ponderação ou como uma variável de ajuste. O pareamento de indivíduos entre os grupos faz com que a distribuição das características seja similares, tornando os grupos comparáveis e fazendo com que as associações sejam atribuídas unicamente à intervenção ou ao tratamento, como em um estudo randomizado.

Entre as várias abordagens para controlar os desequilíbrios de comparações entre os grupos, optamos por utilizar a regressão logística com técnicas de pareamento e um modelo de regressão generalizado não-paramétrico (GBM, do inglês *Generalized Boosted Modeling*) para estimar o escore de propensão <sup>101</sup>. Assumindo-se um efeito médio de tratamento no sentido de que "a exposição" ao HIV foi o grupo-tratamento e os outros dois grupos considerados como



grupos-controle. O objetivo foi comparar a diferença de efeito medido pela VOP entre esses grupos.

Para estar em conformidade com o exposto, vamos nos referir ao grupo infectado pelo HIV como "tratamento" e os grupos não-infectados pelo HIV como "controle". Um passo crucial para esta abordagem foi escolher adequadamente as variáveis que foram usadas para calcular os escores de propensão. A fim de alcançar esta seleção foram utilizadas as mesmas variáveis que foram selecionadas pelo algoritmo genético para ajustar o melhor modelo linear como acima descrito. Essas variáveis foram então usadas para calcular os escores de propensão e pesos.

Por exemplo, como estimativa paramétrica para o cálculo do escore de propensão com técnicas de pareamento, testamos o *full matching*, *nearest neighbor matching*, *optimal match* e o *genetic matching*. Cada uma destas abordagens tem a sua especificidade e as estimativas mais comuns utilizadas em estudos são o efeito médio do tratamento no grupo tratado (ATT, do inglês *average effect of the treatment on the treated*), que é o efeito para aqueles no grupo de tratamento, e o efeito de tratamento médio (ATE, do inglês *average treatment effect*), que é o efeito em todos os indivíduos (tratado e controle). Uma vez que o melhor algoritmo esteja escolhido, criamos uma base dados correspondente para executar a análise dos resultados.

Para a estimativa não paramétrica do escore de propensão, usamos o GBM, neste caso, o escore de propensão é usado diretamente como pesos inversos nas estimativas do ATE, também conhecido como ponderação pela probabilidade inversa do tratamento (IPTW, do inglês *inverse probability of treatment weighting*) ou a ponderação pelas probabilidades ou *odds* quando queremos estimar o efeito médio do tratamento no grupo tratado ATT, que foi o nosso caso <sup>102</sup>.

Neste último, após verificar o equilíbrio, os pesos foram salvos na base de dados original para serem aplicados no modelo de regressão ponderada.

O equilíbrio foi assegurado através do cálculo de viés padronizados obtidos para todas as covariáveis antes e depois da aplicação do escore de propensão e, em seguida, comparando com técnicas para ver qual produziu todas as diferenças de médias padronizadas (SMD, do inglês *standardized mean differences*) não maiores que 0,25 para cada variável ( autores indicam que 0,1 a 0,25 são cortes razoáveis para uma SMD aceitável <sup>103; 104</sup>).

Também utilizamos métodos gráficos usuais para determinar se as características ponderadas efetivamente equilibraram os dados entre os grupos controles e tratamento. O teste de Kolmogorov-Smirnoff foi utilizado para assegurar que as características ponderadas não diferem estatisticamente entre os grupos de tratamento e controle, quando o GBM for utilizado.

Para determinar a associação entre a infecção por HIV e VOP, ou a sua ausência, foram empregadas várias estratégias, como descrito abaixo. Primeiro, realizamos duas análises separadas, uma comparando o grupo ELSA-INI, com o grupo HIV-negativo e outra comparando o ELSA-INI com o grupo ELSA-Brasil. Para cada análise, apresentamos 4 modelos para comparação: (1) um modelo simples para referência, (2) um modelo completo com todas as covariáveis escolhidas pelo algoritmo genético descrito acima, (3) um modelo simples de escores de propensão ponderado e (4) um modelo completo com as mesmas variáveis utilizadas para calcular os escores de propensão, ou com aquelas que não atingiram balaço pela inspeção visual gráfica, a fim de controlar a confusão residual.

Todas as análises foram feitas no pacote R para Windows 3.1.0 <sup>105</sup>.

### **4.3 OBJETIVO ESPECIFICO #3**

#### População do estudo

Este componente longitudinal do projeto tem como objetivo examinar a incidência de DCV no período de 5 anos na coorte INI e identificar os fatores associados a este desfecho. De forma secundária, vamos também comparar a incidência de DCV observada, ajustada para 5 anos, com o risco predito pelos escores de Framingham, DAD e ASVCD para este mesmo intervalo.

#### Critério de inclusão

- Foram elegíveis para este objetivo, todos os indivíduos acompanhados na Coorte INI , a partir de janeiro de 2006.

#### Critério de exclusão

- Tempo de acompanhamento < 60 dias na Coorte INI
- História de DCV no momento da data de inclusão no estudo.

#### Definições Operacionais

O período de observação teve início em 1 de janeiro de 2006 e prevê a repetição da coleta de dados do prontuário com a coleta de informação quanto ao desenvolvimento de DCV, com sua validação segundo critérios a seguir, até 1 de janeiro de 2017. Consideramos a censura quando pacientes estiverem em acompanhamento e livres de eventos cardiovasculares até 4 meses após o término da observação, pacientes que morreram por outro desfecho que não o de interesse (DCV)

e pacientes que abandonaram o acompanhamento, sendo este definido como a data da última informação disponível em prontuário com posterior não comparecimento às consultas médicas no INI.

Para a análise preliminar deste objetivo, utilizamos a população ELSA-INI que teve seus dados iniciais coletados ao longo do ano de 2012 conforme mencionado na seção 15.2.2 e observamos prospectivamente a ocorrência de DCV reportada na base de dados da Coorte INI até janeiro de 2017. Esta análise usa, portanto, informações da população do objetivo #2, com os dados de acompanhamento da Coorte INI presentes nos registros médicos sobre DCV, o qual é o nosso interesse, coletadas pelo gerenciamento de dados, conforme descrito na seção 15.1.1, presentes no objetivo #1

Uma pessoa que tenha mais de uma manifestação cardiovascular dentro do período de avaliação será contada como um caso incidente apenas no momento do primeiro evento, deixando de estar sob risco.

#### Definição e validação dos desfechos cardiovasculares

Embora a existência de bases de dados administrativas como a que existe na Coorte ELSA-INI tenha suas vantagens, pode ocorrer de nem todas as condições serem registradas nas bases de dados e aquelas registradas podem não corresponder à data de início da doença ou refletir o verdadeiro diagnóstico e avaliação feita por um médico especialista.

Estes erros e inconsistências nos códigos de diagnóstico podem levar a erros de classificação, impactando na qualidade da pesquisa que utiliza estas fontes e, conseqüentemente,

nas práticas de cuidados daí resultantes <sup>106</sup>. Com o objetivo de aprimorar a informação registrada, pacientes da Coorte INI que apresentaram algum evento cardiovascular (incluídos angina, AVC, IAM, ICC, DAP) e que foram registrados no prontuário pelo médico assistente e posteriormente extraídos para uma base de dados por profissionais treinados, foram posteriormente comparados com a avaliação de referência por um cardiologista, segundo critérios baseados nas diretrizes da *American Heart Association (AHA)*, *Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology (ESC/ACC)* e do projeto *WHO MONICA* <sup>107; 108; 109; 110; 111</sup> e classificados como (1) definitivo quando não houver dúvida da ocorrência do evento segundo os critérios, (2) provável quando a probabilidade do evento ter ocorrido for grande, mas algum dado complementar que permita a sua confirmação não foi realizado ou estava faltando no prontuário médico e (3) não tendo ocorrido.

Primeiramente, foi observado se o evento reportado ocorreu ou não e se houve necessidade de reclassificá-lo como um evento diferente daquele que foi registrado na base de dados, para posteriormente avaliá-lo como definitivo, provável ou não tendo ocorrido. Para tal, foram considerados o registro médico ou o sumário de alta hospitalar descrevendo o evento ou procedimento realizado e exames complementares disponíveis para sua confirmação e classificação.

A DAC incluiu os casos de IAM, angina, revascularização coronária ou morte súbita por doença coronária.

Um IAM foi classificado como definitivo quando houve relato da presença de sintomas sugestivos de isquemia miocárdica como dor torácica, dor no peito ou angina em conjunto com o

aumento ou diminuição dos valores dos biomarcadores cardíacos que incluiu quaisquer um dos seguintes: mioglobina, CK total, CKMB, CK massa ou Troponina e, no eletrocardiograma (ECG), o desenvolvimento de novas ondas Q ou novas alterações no segmento ST, na onda T e BRE novo.

Na ausência de ECG, foi aceita a evidência em exames de imagem como Cintilografia, Ressonância Cardíaca ou Ecocardiográfica (ECO) de perda de miocárdio viável ou de nova alteração segmentar de contratilidade ventricular indicado por hipocinesia ou acinesia. Na ausência de ECG e de biomarcadores ou exames de imagem, a identificação de um trombo intracoronariano durante angiografia ou morte súbita e inesperada envolvendo parada cardíaca confirmaram o diagnóstico de IAM.

O evento foi considerado como provável de ter ocorrido quando houve relato de sintomas sugestivos de isquemia e novas alterações no ECG ou de perda de miocárdio viável em exames de imagem, com biomarcadores indisponíveis para confirmação do evento. Quando possível, o IAM foi classificado como IAM com supradesnível do segmento ST na presença deste tipo de alteração ao ECG e IAM sem supradesnível do segmento ST na ausência desta alteração do segmento ST.

Angina foi classificada como definitiva quando houve a documentação de desconforto na região precordial tipo aperto, pontada, queimação ou sintomas equivalentes a isquemia ocorridos em repouso ou durante atividade física de esforço juntamente com a presença de biomarcadores negativos e evidências de isquemia em testes não-invasivos que incluíram: alterações dinâmicas no ECG em repouso, isquemia miocárdica induzida em teste de esforço, cintilografia miocárdica ou ECO de stress, lesão coronariana na angiografia ou procedimentos de revascularização

coronariana, mais o uso de medicações para prevenir ou tratar angina que são usualmente a Aspirina, Clopidogrel, Nitrato, Beta-bloqueadores e Bloqueadores dos canais de cálcio. Consideramos o evento como provável quando houve descrição de sintomas clínicos de angina juntamente com início de seu tratamento, porém, sem resultados de exames disponíveis para sua confirmação.

A revascularização coronariana foi definida como o relato em sumário de alta hospitalar ou registro médico durante o qual o procedimento foi realizado para tratamento da DAC e inclui cirurgia de revascularização miocárdica e angioplastia transluminal percutânea com ou sem o implante de Stents.

A presença de AVC foi considerada definitiva quando houve o relato de um início agudo, com achados objetivos de déficit neurológico localizado por mais de 24 horas e achados em exames de imagem, como tomografia computadorizada (TC) ou ressonância nuclear magnética (RNM), compatíveis com o diagnóstico de AVC. Quando exames de imagem não estiverem disponíveis, uma certidão de óbito ou registro médico listando AVC como causa da morte indicou o diagnóstico como definitivo.

Consideramos o evento como provável quando só houver a descrição dos sintomas neurológicos com déficit funcional persistente. Quando o déficit neurológico persistiu por menos de 24 horas e os exames de imagem não demonstraram lesão cerebral consideramos o evento como um ataque isquêmico transitório. O AVC foi ainda classificado como isquêmico quando não houve hematoma detectado nos exames de imagem ou hemorrágico, quando o sangramento foi detectado.

A ICC teve seu diagnóstico confirmado na presença de: (1) sintomas novos de dispnéia descritos geralmente como dispnéia aos esforços, dispnéia em repouso, ortopnéia, dispnéia paroxística noturna, diminuição da tolerância ao exercício, fadiga ou cansaço mais (2) evidências objetivas de ICC ou seu agravamento evidenciados através de edema periférico ou aumento da distensão abdominal ou ascite, estertores pulmonares, crepitações, ganho de peso provavelmente relacionado à retenção de líquidos, ou exames de imagem demonstrando fração de ejeção (FE) menor que <50% ou disfunção diastólica ventricular com aumento da pressão atrial esquerda ou hipertensão pulmonar. O evento foi considerado como provável na presença dos sintomas de ICC descritos em conjunto com evidência radiológica de congestão pulmonar e início de tratamento especificamente para ICC como o uso de diuréticos por via oral ou intravenosa, o início de agentes vasoativos inotrópicos, vasopressores, vasodilatadores ou diálise.

Os critérios para um evento DAP definitivo incluíram descrição da presença de sinais ou sintomas clínicos como claudicação intermitente, sopros femorais, diminuição dos pulsos periféricos, mudança de cor ou temperatura do membro, além de resultado positivo em estudos de diagnóstico por imagem como ultrassonografia com Doppler, arteriografia, angio-TC ou angio-RNM dos membros inferiores demonstrando a presença da obstrução arterial. Quando exames de imagem não estavam disponíveis, um registro médico de internação, durante o qual um procedimento invasivo para o tratamento da DAP foi realizado, por exemplo, angioplastia ou cirurgia vascular, documenta a ocorrência do evento<sup>110</sup>. O diagnóstico foi considerado provável de ter ocorrido quando só houve a presença de sinais ou sintomas clínicos com a prescrição concomitante de medicamentos para tratamento de sintomas de claudicação como Aspirina, Clopidogrel, Cilostazol ou Pentoxifilina.



A validação dos desfechos cardiovasculares baseados nestes critérios vem sendo realizada pelo doutorando em conjunto com alunos de iniciação científica da Fiocruz sob treinamento, e teve início em 01 de julho de 2014 com previsão de término até 1 de janeiro de 2017. Entretanto, observamos que existe um atraso maior do que esperávamos entre a data da ocorrência do evento e o seu reporte no prontuário eletrônico durante visita médica de rotina em alguns casos e na maioria dos casos também há um atraso na coleta da informação pela equipe de gerenciamento de dados, portanto ainda estamos coletando informações de eventos que ocorreram até janeiro de 2017.

Não obstante, o resultado de uma análise preliminar de 146 eventos ocorridos entre janeiro de 2006 a março de 2016 e apresentados no X Congresso Brasileiro de Epidemiologia em 2017 demonstrou que 77.39% dos eventos foram confirmados e a concordância entre a informação extraída para o banco de dados pela equipe de gerenciamento com a nossa validação, foi boa para o IAM ( $Kappa=0.70;IC95\%=0.52-0.87$ ), muito boa para AVC ( $Kappa=0.94;IC95\%=0.87-0.99$ ) e DAC ( $Kappa=0.86;IC95\%=0.72-0.95$ ) mas fraca para DAP ( $Kappa=0.36;IC95\%=0.17-0.55$ ).

Foi necessária a reclassificação de 30 (20.54%) eventos, evidenciando boa concordância, porém não perfeita, entre os parâmetros avaliados e a necessidade de refinar o treinamento, especialmente para DAP, a fim de aumentar a confiabilidade dos dados clínico-epidemiológicos

112

Os eventos cardiovasculares classificados como definitivo e provável pelo critério de referência foram considerados como válidos e empregados nas análises que se seguem

## CONSIDERAÇÕES ESTATÍSTICAS

O objetivo principal será calcular a incidência total de DCV na coorte INI e identificar as variáveis que podem ou não estar relacionadas à infecção pelo HIV e que são significativas para a ocorrência de DCV em pessoas vivendo com HIV/AIDS, no período de janeiro de 2006 a janeiro de 2017. Usaremos uma abordagem de tempo até o evento com modelos de Cox múltiplos.

A análise descritiva geral seguirá a mesma metodologia utilizada nos outros objetivos consistindo em mediana com intervalo interquartil (IQR) para variáveis contínuas e distribuição de frequências com intervalo de confiança de 95% (IC 95%) para as variáveis categóricas. As diferenças nas características entre PVHA com e sem DCV ao final do acompanhamento foram avaliadas pelo teste de Mann-Whitney para variáveis contínuas e pelo teste chi-quadrado para variáveis categóricas. Valores de p inferiores a 5% considerados significativos para a comparação de diferenças entre grupos.

No estudo dos fatores de risco associados à DCV em PVHA, após 5 anos de seguimento, vamos utilizar os modelos de sobrevivência baseados no tempo até a ocorrência do evento. Partindo dos pressupostos de que o risco é constante ao longo do tempo e os tempos de ocorrência do evento cardiovascular são independentes<sup>113</sup>, adotamos o modelo de riscos proporcionais de Cox que ajusta a função de risco  $\lambda(t)$  considerando um risco basal  $\lambda_0(t)$  e inclui um vetor de covariáveis  $X$  e coeficientes  $\beta$  pela equação:

$$\lambda(t|x) = \lambda_0(t) \exp(x_1\beta_1 + x_2\beta_2 + \dots + x_p\beta_p) = \lambda_0(t) \exp(x\beta)$$

Podemos então estimar a *hazard ratio* (HR) para a ocorrência de DCV, com seus

respectivos intervalos de confiança (IC) 95%<sup>113</sup>. Os diferentes modelos foram comparados pelo teste de Wald, o qual testa a hipótese nula de que o parâmetro da regressão é igual a zero. A verificação dos pressupostos do modelo de Cox, tais como, proporcionalidade e forma funcional será feita pela análise de resíduos de Schoenfeld e Martingale e a identificação de valores aberrantes vai ser verificada através de resíduos Escore.

Para selecionar as variáveis que entrarão no modelo de Cox final entre uma lista de candidatas utilizamos o mesmo procedimento empregado anteriormente que consiste na implementação de um algoritmo genético, utilizando o *akaike information criterion* (AIC) como critério para comparar o melhor modelo obtido, além disto, variáveis consideradas clinicamente importantes também foram retidas no modelo.

De forma secundária, para comparar as medidas das funções de risco que foram derivadas em suas coortes originais em indivíduos que também estavam livres de DCV, com a incidência de DCV observada na coorte, as equações de Framingham, DAD e ASVCD foram aplicadas na coorte INI, gerando valores de risco nela preditos para DCV em 5 anos.

Para o cálculo do número observado de eventos cardiovasculares, a probabilidade cumulativa de DCV em 5 anos será calculada através do estimador produto limite de Kaplan-Meier. Escolhemos ajustar para o período de 5 anos por ser um valor próximo à mediana de acompanhamento esperada para o período total estudado.

O risco predito de DCV em 5 anos de cada participante foi calculado utilizando primeiramente a equação de risco de Framingham através da combinação da idade, sexo, pressão arterial sistólica, uso de terapia anti-hipertensiva e valores do colesterol total sérico (TC) e HDL-

colesterol (HDL-c ), tabagismo atual e diabetes <sup>93</sup>. Para risco predito de DCV pelo algoritmo DAD usamos a combinação das informações para a idade; sexo; pressão arterial sistólica; CT sérico e HDL-c, diabetes; tabagismo atual ou passado; história familiar de DCV; uso atual de Abacavir, Indinavir ou Lopinavir; e o número de anos em Indinavir ou Lopinavir. Por último, risco pelo ASCVD foi estimado usando informações da idade, diabetes, sexo, raça, tabagismo, pressão arterial sistólica, tratamento para hipertensão, TC e HDL-c. Para a comparação, o risco de DCV em 5 anos foi arbitrariamente categorizado como baixo (<1%), moderado (1 a 5%) e alto (> 5%) para cada equação.

## CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

A pesquisa observou as recomendações da Resolução CNS no 446/11 – Conselho Nacional de Saúde – Comissão Nacional de Ética em Pesquisas – CONEP e teve a aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca (Protocolo CEP N° 5240, CAAE: 62173316.7.0000.5240)

O autor do estudo se comprometeu a garantir o sigilo e a confidencialidade dos dados obtidos bem como a privacidade de seu conteúdo.

## ORÇAMENTO

O projeto é apoiado pela Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e

Tecnológico (CNPq) e pelo Programa Estratégico de Apoio à Pesquisa em Saúde (PAPES) - Fundação Oswaldo Cruz.

O estudo de base ELSA-Brasil é apoiado pelo Ministério da Saúde (Departamento de Ciência e Tecnologia), pelo Ministério da Ciência e Tecnologia e pela CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa) nos subsídios 01 06 0.010,00 RS, 01 06 0.212,00 BA, 01 06 0.300,00 ES, 01 06 0.278,00 MG, 01 06 0.115,00 SP, 01 06 0.071,00 RJ.

## 5. RESULTADOS

Com o primeiro artigo identificamos diferenças nas taxas de mortalidade e padrões específicos nas causas de óbito relacionados à PVHA que foram diferentes entre aqueles com DM quando comparados aos sem DM. O artigo se encontra publicado em “MOREIRA, R. C. et al. Diabetes Mellitus is Associated with Increased Death Rates Among HIV-Infected Patients in Rio de Janeiro, Brazil. **AIDS Res Hum Retroviruses**, Jul 14 2016. ISSN 1931-8405 (Electronic) 0889-2229 (Linking). Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27329066> ”<sup>114</sup>.

O segundo artigo teve como tema observar fatores associados à rigidez arterial medida pela VOP e a comparação entre um grupo infectado pelo HIV com dois grupos não-infectados, a colaboração INI-ELSA-Brasil. O artigo foi publicado no *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* (JAIDS) e se encontra disponível em “MOREIRA, R. C. et al. HIV Infection Is Not Associated With Aortic Stiffness. Traditional Cardiovascular Risk Factors Are the Main Determinants-Cross-sectional Results of INI-ELSA-BRASIL. **J.Acquir. Immune**

**Defic.Syindr.** 2018

May

1;78(1):73-81.

Disponível

em

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29624545> » <sup>115</sup>

O terceiro artigo está em fase de preparação para submissão e será terminado após análise das curvas de sobrevida para DCV, com o cálculo da incidência de DCV e identificação dos fatores a ela associados, na coorte INI. Serão apresentados, entretanto, os resultados preliminares de 5 anos com a coorte INI-ELSA por esta última já ter todas as variáveis coletadas de forma mais completa para um período menor de tempo.

## **5.1 Publicação do objetivo específico #1 sob a forma de artigo.**

### **Diabetes mellitus is associated with increased death rates among HIV-infected patients in Rio de Janeiro, Brazil**

Rodrigo C. Moreira MD,MsC<sup>1,2</sup>; Antonio G. Pacheco MD, PhD<sup>1</sup>, Adelzon Paula, MsC<sup>1</sup>, Sandra W. Cardoso MD,PhD<sup>2</sup>, Ronaldo I. Moreira MD, MsC<sup>2</sup>, Sayonara R. Ribeiro MD, PhD<sup>2</sup>; Estevão P. Nunes MD,PhD<sup>2</sup>, Maria R. Guimarães MD,PhD<sup>2</sup>, Fernanda C. Mello MD,PhD<sup>3</sup>, Valdilea G. Veloso MD,PhD<sup>2</sup>, Beatriz Grinsztejn MD,PhD<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Computação Científica, FIOCRUZ; <sup>2</sup>Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, FIOCRUZ; <sup>3</sup>Instituto de Doenças do Tórax, Universidade Federal do Rio de Janeiro -  
Rio de Janeiro, Brazil

Running title: Diabetes increases death rates in HIV patients

Keywords: Epidemiology, **HIV clinical outcomes research, viral pathogenesis**

## Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a major cause of morbidity worldwide and a known factor leading to increased risk of death, especially in conjunction with other risk factors. In this study, we evaluated the prevalence of DM among HIV-infected patients and its association with overall mortality. All HIV-infected patients 18 years or older followed in the Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) cohort from January 1991 to December 2011 were included. Time-updated covariables included DM status, calendar year, combination antiretroviral therapy (cART) and CD4 cell counts. Fixed demographic covariables included gender and age at entry. Poisson models were used to calculate mortality rate ratios (RR) with robust variances. Among the 4871 patients included, 1192 (24.4%) have died (mortality rate = 4.72/100PY; 95%CI=4.46-5.00). Death rates were significantly higher among those presenting DM compared to those who did not (6.16/100PY vs. 4.61/100PY, respectively.  $p=0.001$ ). In the final model, DM was significantly associated with mortality (RR=1.74;95%CI=1.57-1.94;  $p< 0.001$ ). When the analysis was restricted to those on cART or the period post-1996, the association between DM and mortality was even stronger (RR=2.17; 95%CI=1.91-2.46; $p< 0.001$ ) and (RR=1.95; 95%CI=1.75-2.18; $p< 0.001$ ) respectively. Among the major groups of cause of deaths (CODs) the proportion of AIDS-related conditions in patients with DM was lower (74.27% vs 58.93%, respectively;  $p<0.001$ ), whereas in non-AIDS related conditions, non-immunodeficiency related causes (22.44% vs 34.82%, respectively.  $p=0.004$ ) were more common in patients with DM. In conclusion, DM was associated with increased mortality rates even after controlling for HIV-related variables associated to this outcome. Differences in the underlying CODs were identified, reinforcing the necessity to assess and treat comorbidities such as DM in HIV-infected patients.



## **Introduction**

Diabetes mellitus (DM) is a highly prevalent cause of morbidity worldwide, and operates along a diversity of risk factors to determine the underlying macro and microvascular dysfunctions seen in cardiovascular diseases (CVDs), which collectively can lead to death<sup>1</sup>. DM-associated mortality is also commonly caused by cerebrovascular disease, peripheral arterial disease, and renal failure, all of which share similar traditional risk factors. \

So far, investigations show that specific antiretrovirals regimens have been linked to insulin resistance, dyslipidemia and body fat redistribution, leading to an increased risk of ischemic heart disease.<sup>2</sup> Hence, DM occurrence and its association with metabolic syndrome, a cluster of risk factors to CVDs, is becoming highly prevalent among people living with HIV/AIDS (PLWHA) from industrialized and developing countries<sup>3</sup> as well. Consequently, CVDs have become a major cause of death (COD) among PLWHA<sup>4</sup> in the cART era.

The implementation and scaling of combined antiretroviral therapy (cART) prompted a marked decrease in AIDS-related causes of death and improvement in survival among HIV-infected individuals, leading to increased awareness in respect to deaths caused by illnesses that were not previously considered to be AIDS-related. The emergence of comorbidities such as non-AIDS-defining malignancies, liver disease, CVD and DM has been increasingly reported worldwide, irrespective of the development level.<sup>5-9</sup>

Associations linking HIV, AIDS treatment, and apparent increases in so-called “non-AIDS-related” causes of death clearly need more investigation. In the past, we assumed that most “AIDS-related” mortality would be the consequence of immunosuppression, but more recently it

has become clear that AIDS-related or treatment-related metabolic deregulation is also important

10

Brazil constitutes a unique setting since it is a large low-income country where cART has become available in a free and universal manner since 1996. We have previously reported the emergence of DM and CVD as COD<sup>6, 11</sup> among HIV-infected individuals in Brazil. However, only a few studies have investigated the consequences of diabetes in large cohorts of PLWHA.

In this paper we aimed to evaluate the prevalence of DM in a large cohort of PLWHA in Rio de Janeiro and assess DM relation to all-cause mortality.

## **Methods:**

### **Cohort**

This study was conducted at the Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) located at Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Rio de Janeiro State, Brazil. INI is a national reference center for infectious diseases and has been a reference center for care, research, and training related to HIV/AIDS since 1986. An observational, longitudinal, clinical database - INI Cohort, formerly known as the IPEC cohort - is maintained with PLWHA receiving primary, specialty and tertiary HIV care at its facilities. Clinical care, laboratory tests and hospitalization data are all available in electronic and paper records. Viral load and CD4 cell counts are measured 2-3 times a year as part of regular care of patients. The CD4 / CD8 lymphocyte count is measured by flow cytometry (Becton-Dickinson, USA).

Quantitation of HIV RNA is performed using nucleic acid sequence-based amplification methodology (NASBA; NucliSens HIV-1 QT Test, Organon Teknika, Bostel, The Netherlands) with a minimum detection limit of 80 copies / ml. Antiretroviral treatment follows the Ministry of Health recommendations for antiretroviral treatment of adults and adolescents, which is periodically reviewed by a panel of experts in the field. Prophylaxis and treatment of opportunistic infections also follow the recommendations of the Brazilian Ministry of Health.<sup>12</sup>

Data are updated every 6 months using outpatient and inpatient clinical documentation and laboratory testing results comprising measurements of lipids, fasting glucose, and glycated hemoglobin. Prescription of antiretroviral therapy is documented by the medical provider and support staff in the clinical records. Trained abstractors record all information into standardized forms, which are processed into a central database. Further details on the HIV/AIDS cohort can be found elsewhere<sup>13</sup>.

All PLWHA followed in the INI cohort who were older than 18 years and had a minimum follow up of 60 days, from January 1991 to December 2011 were included.

### **Outcome of interest and operational definitions**

Information on the vital status - the outcome of interest – was abstracted from clinical charts. Records of the PLWHA from the cohort were linked with the Rio de Janeiro Mortality Registry using a previously validated linkage algorithm allowing for specific errors in names and dates of birth. Upon validation the algorithm has proved to be highly sensitive and specific in retrieving information on the vital status for those considered lost to follow-up<sup>14</sup>.

DM was determined and further assessed from medical charts every 6 months whenever subjects had fasting glucose  $\geq 126$  mg/dl or glycated hemoglobin (A1C)  $>6,5$  or clinical history of DM or treatment with oral hypoglycemic agents or insulin. DM occurrence has been defined as cases reported at any time of the follow-up as a chronic non AIDS-related condition.

Given the incurable trait of such condition, we considered DM reporting as prevalent cases to include incident cases as well as participants who had DM at baseline examinations.

AIDS-diagnosis at baseline was defined by the occurrence of an AIDS-defining illness or CD4 cell count  $<200/uL$  at or before cohort enrolment (CDC AIDS case definition<sup>15</sup>). Race/ethnicity was based on the providers report and was categorized into white and other. Schooling was self-reported and categorized according to the number of years in school into three groups:  $< 6$  years (low formal education), 6–9 years, and  $>9$  years. Age at enrolment was calculated as the difference between date of birth and date of enrolment and categorized as 18 – 30, 31 – 40, 41 – 50, 51 – 60,  $>60$ .

Baseline CD4 cell count was defined within a window of 180 days of enrolment, and, if more than one measurement was available, the value closest to the date of enrolment was chosen and categorized as follows:  $\leq 100$ , 101–200, 201–350, 351–500,  $>500$ .<sup>16</sup> Individuals were considered on cART if in use of at least three antiretroviral drugs: two nucleoside reverse transcriptase inhibitor and either one protease inhibitor or one non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, and categorized into those who, at any given point in time, used cART for more than 12 weeks, and those who never used cART (never used or used for 12 weeks or less). HIV exposure categories were self-reported and categorized hierarchically into injection drug use

(IDU, irrespective of sexual practices), men who have sex with men (MSM, including bisexuals), heterosexual and other/unknown.

All death events that occurred in the study period were classified according to coding causes of death in HIV (CoDe) methodology (<http://www.cphiv.dk/DAD/>). CoDe is a standardized method for specifying the underlying COD in HIV-positive individuals. It has been designed for clinical trials and epidemiologic studies and includes detailed data collection on the causes of death and contributing factors and a centralized review process of informations<sup>13</sup>. Groups of causes of death were defined according to the categories presented in the CoDe review form.

### **Statistical methods**

Descriptive statistics included the median and interquartile range (IQR) for continuous variables and frequency distributions for categorical variables. A table was created to compare the characteristics between alive and dead patients in the cohort at the end of follow-up as well as characteristics of diabetic (ever) vs. non-diabetic subjects. Differences were assessed with non-parametric Mann-Whitney test for continuous variables and Chi-squared tests for categorical variables. Mortality rates were expressed as number of deaths per 100 person-years (PY) with 95% confidence intervals (95% CIs) calculated using the exact Poisson method.

Multivariate analyses with Poisson models were used to calculate rate ratios (RR) with robust variances for the association between DM and mortality in the entire cohort period and after restricting the analysis to the period post-1996, as well as to subjects ever on cART. For descriptive statistics all variables were considered fixed, but for the Poisson models DM status,

calendar year, cART use and CD4 cell counts were treated as categorical, time-updated covariables whereas all other covariables were fixed.

Chi-squared or Fisher's Exact Test when appropriate, summarizes differences in the observed proportions of AIDS-related mortality according DM status. P-values  $< 0.05$  were considered statistically significant. All analyses were done in the R environment version 3.1.1<sup>17</sup>.

### **Ethical Approval**

This study was conducted according to Declaration of Helsinki principles. INI PLWHA cohort was approved by the Evandro Chagas Clinical Research Ethics Committee (043/2010, 0032.0.009.000-10). All participants have provided written informed consent.

### **Results**

The study was comprised 4871 participants in the cohort, which contributed to 24165 person-years of follow-up; From these, 1192 (24.4%) have died (death rate = 4.72/100PY; 95%CI=4.46-5.00) and 498 have had a DM diagnosis, yielding to a DM prevalence of 10.2%; Overall median age was 34.8 years; in patients who were alive age was slightly lower compared to those who were dead (median of 34,4 and 35,8, respectively;  $p < .001$ ).

The proportion of males was 67.5% and 47.4% had low formal education. In comparison to alive patients, dead patients were more likely to be male, to have low formal schooling, to present lower CD4 cell counts, to have an AIDS diagnosis at the baseline and were less likely to have ever experienced cART (Table 1). Patients with DM were twice as likely to have dyslipidemia when compared to patients without DM (50.4% vs 21.9%;  $p < 0.001$ ). In addition,

patients with DM were older (41.2% in DM vs. 34.1 in non-DM respectively;  $p<0.001$ ) and more likely to belong the heterosexual risk category group (51% in DM vs 45.7% in non-DM;  $p=0.042$ ).

However, despite they were more likely to cART use (91.6% in patients with DM vs 70.6% in patients without DM;  $p<0.001$ ), CDC criteria for AIDS (59% in patients with DM vs 51.8% in without DM;  $p=0.003$ ) and pulmonary tuberculosis (14.75 in patients with DM vs 9.8 in patients without DM;  $p<0.001$ ) were more frequent in DM participants (Table 2). Crude analysis comparing the mortality rates of diabetics with non-diabetics showed that death rates were significantly higher among patients with DM (6.16/100PY vs. 4.61/100PY among those without DM,  $p=0.001$ ).

In the final Poisson model, DM was significantly associated with mortality (RR=1.74; 95%CI=1.57-1.94; $p< 0.001$ ). Male sex, older age, CD4 counts, cART use and higher education were also associated. Furthermore, death rates declined significantly over the cohort enrollment period (Table3). The association was even stronger when the analysis was restricted to those who used cART (RR=2.27; 95%CI=1.78-2.89; $p<0.001$ ) or the period post-1996 (RR= 2.11; 95%CI=1.70-2.62; $p<0.001$ ) (Table 4).

COD was ascertained for 98.7% of the patients (1177 out of 1192). Among the major groups of CODs, AIDS-related conditions accounted for the bulk of deaths regardless DM status (72.81%); the proportion of AIDS-related conditions in patients with DM was lower when compared to the proportion among those without DM (74.27% vs 58.93%, respectively;

$p < 0.001$ ), whereas non-immunodeficiency related causes (22.44% vs 34.82%,  $p = 0.004$ ) and unknown causes (3.29% vs 6.25%,  $p = 0.10$ ) were more common in patients with DM (Table 5).

The analyses of deaths by specific causes respectively revealed that patients with DM died from AIDS-malignancies in a higher proportion (14.29%) compared to patients without DM (5.26%,  $p < 0.001$ ), Similar results have been ascribed to liver-related diseases (4.46% vs 1.5%,  $p = 0.04$ ) and cardiovascular diseases (6.25% vs 3.95%,  $p = 0.21$ ), although in the later data is too small to draw any definitive conclusion.

## **Discussion**

In this paper we describe the prevalence of DM and its association with mortality rates among adults living with HIV in Rio de Janeiro, Brazil, a middle-income country providing free and universal antiretroviral therapy since 1996. The study showed a significantly higher mortality rate among HIV patients with DM even after adjusting for gender, age, CD4, cART use and Schooling. Besides, despite such a low median age, DM was a significant contributor to excess mortality. Moreover, COD commonly associated with diabetes such as cardiovascular events and renal failure were not the main drivers of the observed mortality differential. The apparent contribution of malignancy and hepatic disease needs to be closely observed.

Because both the causes and timing of death changed dramatically in the cohort during the late 1990s and mortality predictors in subjects enrolled early may have been quite different than those in subjects who enrolled later, statistical models have been adjusted for calendar year. Furthermore, when the analysis was restricted to the period after 1996, the adjusted rate ratio for the association between DM and mortality was even higher.



These results are consistent with other large cohort studies<sup>7, 9</sup>. For instance, data from SMART and SPIRIT combined showed that diabetes is an independent predictor for death following a non-AIDS event<sup>18</sup>. In D.A.D study DM was also associated with an increased risk of all causes of mortality considered, with an exception for non-AIDS malignancies<sup>2</sup>. As PLWHA on cART seems to be at higher risk of insulin resistance and diabetes mellitus compared with HIV-uninfected patients, calling attention to screen and properly manage diabetes before and after cART initiation<sup>19</sup> in order to prevent the occurrence of nonfatal events as well as to increase life expectancy.

The adjusted rate ratio was significantly higher among those with DM and even greater when restricting the analyses to those using cART, pointing to an increasing DM prevalence as a result of augmented survival. Moreover, AIDS treatment itself, in addition to older age may increase the incidence of DM in survivors. Currently, cART coverage in Brazil is up to 80%<sup>20</sup>; herein the proportion of patients ever on cART was 72.7%.

The observed prevalence of DM (10.2%) was slightly more elevated than the prevalence estimated for the overall Brazilian population (6.0%)<sup>21</sup>, even though it is comparable to other HIV populations under cART treatment<sup>22</sup>. The emergence of DM in PLWHA is likely due to the confluence of factors including the increasing proportion of overweight and obesity<sup>23</sup>, the growing prevalence of metabolic syndrome<sup>3</sup>, HCV coinfection<sup>24, 25</sup> and the metabolic complications of certain classes of antiretroviral, mainly protease inhibitors<sup>26, 27</sup>. Yet, aging of the individuals living with HIV would lengthen their exposure to the same risk factor thought to determine DM in the general population<sup>28</sup>.

AIDS-related malignancies were more frequent among patients with DM in comparison to patients without DM. Recently, we pointed Kaposi's sarcoma and non-Hodgkin lymphomas as the commonest COD within AIDS-malignancy group in the same cohort<sup>13</sup>. While DM has been associated to increased risks for a wide range of cancer types<sup>29, 30</sup> and classical Kaposi's sarcoma strongly and independently associated to DM<sup>31</sup>, no conclusion has been drawn so far in relation to non-Hodgkin lymphomas<sup>30</sup>.

Hepatitis C has been linked both to DM through insulin resistance, and to non-Hodgkin's lymphoma. Concurrent DM and chronic Hepatitis C increase the rate of progression to liver failure and hepatocellular carcinoma.<sup>32</sup> Depending on the prevalence of HCV in this cohort, it could be a partial explanation for the observed COD patterns in Table 5. The combination of diabetes and alcoholism would also contribute to liver deaths.

The higher prevalence of alive patients with DM, relative to those who died also suggests that DM might accelerate the progression of other disease entities in the setting of HIV, as reported with hepatitis C virus coinfection.<sup>33</sup> This can explain the increased mortality rate associated with DM.

The present study has some important weaknesses, mainly concerning confounding effects. Thus, the manuscript lacks data regarding covariates considered well-established mortality risk factors, such as obesity, smoking, alcoholism, hypertension and hepatitis C serostatus. In addition, we were not able to assess type-1 DM in our study and misclassification could have occurred if diagnoses of DM status were missed by physicians or via the data collection methods employed. Information of regimen adherence and HIV viral load evolution

might have had an impact on overall mortality but were also unavailable in our database. This would result in an over- or underestimation of risk ratios, but both the comprehensive way in which DM diagnosis was ascertained and the similar magnitude of results to other studies in literature makes us expect these effects were minimal.

In order to warrant reliability of the study, measures for collecting and processing data were established as follows: standardization of procedures according to the current guidelines, trained staff to monitor and review data records and the use a high-sensitivity linkage algorithm to minimize losses to follow up.

Although it is not feasible to ensure whether the presented data are representative of the Brazilian population with HIV/AIDS, they are very likely to represent those living in large urban centers in Brazil.

Collectively, our data reinforce the need to assess and manage chronic comorbidities, particularly DM in HIV populations in settings where cART use is being expanded through public health interventions so its benefits can be fully experienced. The importance of endorsing the same preventive measures directed to the general population in the direction of adherence to screening guidelines and glycemic control into the preventive care of HIV-infected patients is instrumental to improve survival and quality of life among such individuals.

**Conclusions:** DM was significantly associated to increased mortality rates among HIV-infected patients even after controlling for HIV-related variables associated to this outcome. Moreover, we identified some differences in the underlying COD among patients with DM. Additional

studies should investigate the causal pathways that appear to link diabetes with deaths from AIDS-associated malignancies and liver disease in similar populations, so that the most effective intervention opportunities could further be identified.

## References

1. Cheng S, Claggett B, Correia AW, et al. Temporal trends in the population attributable risk for cardiovascular disease: the atherosclerosis risk in communities study. *Circulation*. Sep 2 2014;130(10):820-828.
2. Data Collection on Adverse Events of Anti HIVdSG, Smith C, Sabin CA, et al. Factors associated with specific causes of death amongst HIV-positive individuals in the D:A:D Study. *AIDS*. Jun 19 2010;24(10):1537-1548.
3. Paula AA, Falcao MC, Pacheco AG. Metabolic syndrome in HIV-infected individuals: underlying mechanisms and epidemiological aspects. *AIDS Res Ther*. 2013;10(1):32.
4. Crabtree-Ramirez B, Del Rio C, Grinsztejn B, Sierra-Madero J. HIV and noncommunicable diseases (NCDs) in Latin America: a call for an integrated and comprehensive response. *J Acquir Immune Defic Syndr*. Sep 1 2014;67 Suppl 1:S96-98.
5. Palella FJ, Jr., Baker RK, Moorman AC, et al. Mortality in the highly active antiretroviral therapy era: changing causes of death and disease in the HIV outpatient study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. Sep 2006;43(1):27-34.
6. Paula AA, Schechter M, Tuboi SH, et al. Continuous increase of cardiovascular diseases, diabetes, and non-HIV related cancers as causes of death in HIV-infected individuals in Brazil: an analysis of nationwide data. *PLoS One*. 2014;9(4):e94636.
7. Hasse B, Ledergerber B, Furrer H, et al. Morbidity and aging in HIV-infected persons: the Swiss HIV cohort study. *Clin Infect Dis*. Dec 2011;53(11):1130-1139.
8. Chu C, Umanski G, Blank A, Meissner P, Grossberg R, Selwyn PA. Comorbidity-related treatment outcomes among HIV-infected adults in the Bronx, NY. *J Urban Health*. Jun 2011;88(3):507-516.
9. Lucas GM, Chaisson RE, Moore RD. Survival in an urban HIV-1 clinic in the era of highly active antiretroviral therapy: a 5-year cohort study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. Jul 1 2003;33(3):321-328.
10. Grinspoon S, Carr A. Cardiovascular risk and body-fat abnormalities in HIV-infected adults. *N Engl J Med*. Jan 6 2005;352(1):48-62.
11. Pacheco AG, Tuboi SH, Faulhaber JC, Harrison LH, Schechter M. Increase in non-AIDS related conditions as causes of death among HIV-infected individuals in the HAART era in Brazil. *PLoS One*. 2008;3(1):e1531.
12. F M. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos. Accessed 03/23/2016, 2016.
13. Grinsztejn B, Luz PM, Pacheco AG, et al. Changing mortality profile among HIV-infected patients in Rio de Janeiro, Brazil: shifting from AIDS to non-AIDS related conditions in the HAART era. *PLoS One*. 2013;8(4):e59768.

14. Pacheco AG, Saraceni V, Tuboi SH, et al. Validation of a hierarchical deterministic record-linkage algorithm using data from 2 different cohorts of human immunodeficiency virus-infected persons and mortality databases in Brazil. *Am J Epidemiol*. Dec 1 2008;168(11):1326-1332.
15. From the Centers for Disease Control and Prevention. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *JAMA*. Feb 10 1993;269(6):729-730.
16. Luz PM, Grinsztejn B, Velasque L, et al. Long-term CD4+ cell count in response to combination antiretroviral therapy. *PLoS One*. 2014;9(4):e93039.
17. *R: A language and environment for statistical computing*. [computer program]. Version. Vienna, Austria.: R Foundation for Statistical Computing.; 2014.
18. Neuhaus J, Angus B, Kowalska JD, et al. Risk of all-cause mortality associated with nonfatal AIDS and serious non-AIDS events among adults infected with HIV. *AIDS*. Mar 13 2010;24(5):697-706.
19. Durand M, Sheehy O, Baril JG, Leloirier J, Tremblay CL. Association between HIV infection, antiretroviral therapy, and risk of acute myocardial infarction: a cohort and nested case-control study using Quebec's public health insurance database. *J Acquir Immune Defic Syndr*. Jul 1 2011;57(3):245-253.
20. WHO. *GLOBAL UPDATE ON HIV TREATMENT 2013: RESULTS, IMPACT AND OPPORTUNITIES* 2013.
21. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*. Jan 2010;87(1):4-14.
22. Brown TT, Cole SR, Li X, et al. Antiretroviral therapy and the prevalence and incidence of diabetes mellitus in the multicenter AIDS cohort study. *Arch Intern Med*. May 23 2005;165(10):1179-1184.
23. Miguez-Burbano MJ, Espinoza L, Cook RL, et al. Alcohol, Brain Derived Neurotrophic Factor and Obesity among People Living with HIV. *J AIDS Clin Res*. Sep 20 2013;4:245.
24. El-Zayadi AR, Anis M. Hepatitis C virus induced insulin resistance impairs response to anti viral therapy. *World J Gastroenterol*. Jan 21 2012;18(3):212-224.
25. Negro F. Facts and fictions of HCV and comorbidities: steatosis, diabetes mellitus, and cardiovascular diseases. *J Hepatol*. Nov 2014;61(1 Suppl):S69-78.
26. Lo YC, Chen MY, Sheng WH, et al. Risk factors for incident diabetes mellitus among HIV-infected patients receiving combination antiretroviral therapy in Taiwan: a case-control study. *HIV Med*. May 2009;10(5):302-309.
27. Justman JE, Benning L, Danoff A, et al. Protease inhibitor use and the incidence of diabetes mellitus in a large cohort of HIV-infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr*. Mar 1 2003;32(3):298-302.
28. Vance DE, Mugavero M, Willig J, Raper JL, Saag MS. Aging with HIV: a cross-sectional study of comorbidity prevalence and clinical characteristics across decades of life. *J Assoc Nurses AIDS Care*. Jan-Feb 2011;22(1):17-25.
29. Liu X, Hemminki K, Forsti A, Sundquist K, Sundquist J, Ji J. Cancer risk in patients with type 2 diabetes mellitus and their relatives. *Int J Cancer*. Jan 21 2015.
30. Szablewski L. Diabetes mellitus: influences on cancer risk. *Diabetes Metab Res Rev*. Oct 2014;30(7):543-553.

31. Anderson LA, Lauria C, Romano N, et al. Risk factors for classical Kaposi sarcoma in a population-based case-control study in Sicily. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* Dec 2008;17(12):3435-3443.
32. Dyal HK, Aguilar M, Bartos G, et al. Diabetes Mellitus Increases Risk of Hepatocellular Carcinoma in Chronic Hepatitis C Virus Patients: A Systematic Review. *Dig Dis Sci.* Dec 24 2015.
33. Greub G, Ledergerber B, Battegay M, et al. Clinical progression, survival, and immune recovery during antiretroviral therapy in patients with HIV-1 and hepatitis C virus coinfection: the Swiss HIV Cohort Study. *Lancet.* Nov 25 2000;356(9244):1800-1805.

**Table 1-** Descriptive statistics and comparisons between alive and dead patients at the end of follow-up, 1991-2011.

	<b>Alive</b>	<b>Dead</b>	<b>Total</b>	<b>Missing</b>	<b>p-value<sup>a</sup></b>
<b>Total</b>	3679	1192	4871	0	
<b>DM</b>				0	.49
<b>No</b>	3296 (89.6)	1077 (90.4)	4373 (89.8)		
<b>Yes</b>	383 (10.4)	115 (9.6)	498 (10.2)		
<b>Dyslipidemia<sup>b</sup></b>				0	<0.001
<b>No</b>	2635 (71.6)	1026 (86.1)	3661 (75.2)		
<b>Yes</b>	1044 (28.4)	166 (13.9)	1210 (24.8)		
<b>Gender</b>				0	< .001
<b>Female</b>	1266(34.4)	319(26.8)	1585 (32.5)		
<b>Male</b>	2413(65.6)	873(73.2)	3286 (67.5)		
<b>Schooling</b>				2.52	< .001
<b>&lt; 6 years</b>	1810 (5.1)	439(38.7)	2249 (47.4)		
<b>6 to 9 years</b>	973 (26.9)	392 (34.6)	1365 (28.7)		
<b>9 years+</b>	832 (23)	302 (26.7)	1134 (23.9)		
<b>Ethnicity</b>				0.02	.33
<b>White</b>	1944 (53.1)	649 (54.7)	2593(53.5)		

<b>Other</b>	1720 (46.9)	437 (45.3)	2257 (46.5)		
<b>Age (years) median (IQR)</b>	34.4 (28.1,41.7)	35.8 (29.1,43.5)	34.8 (28.4,42.1)	0	< .001
<b>Age groups</b>				0	< .001
<b>10-30</b>	1213 (33)	335 (28.1)	1548 (31.8)		
<b>30-40</b>	1348 (36.6)	435 (36.5)	1783 (36.6)		
<b>40-50</b>	812 (22.1)	273 (22.9)	1085 (22.3)		
<b>50-60</b>	248 (6.7)	115 (9.6)	363 (7.5)		
<b>&gt;60</b>	58 (1.6)	34 (2.9)	92 (1.9)		
<b>CD4 counts (cells/mm3) median (IQR)</b>	326 (142,542)	174 (54.5,362)	300 (117,520)	26.42	< .001
<b>CD4 categories</b>				26.42	< .001
<b>(0,100]</b>	591 (19.6)	207 (36.8)	798 (22.3)		
<b>(100,200]</b>	398 (13.2)	100 (17.8)	498 (13.9)		
<b>(200,350]</b>	605 (20)	107 (19)	712 (19.9)		
<b>(350,500]</b>	554 (18.3)	62 (11)	616 (17.2)		
<b>(500,Inf]</b>	873 (28.9)	87 (15.5)	960 (26.8)		
<b>Ever on cART<sup>c</sup></b>				0	< .001
<b>No</b>	679 (18.5)	650 (54.5)	1329(27.3)		
<b>Yes</b>	3000 (81.5)	542 (45.5)	3542 (72.7)		
<b>Risk Category</b>				0	< .001



<b>Heterosexual</b>	1773 (48.2)	480 (40.3)	2253 (46.3)
<b>IDU</b>	62 (1.7)	61 (5.1)	123 (2.5)
<b>MSM</b>	1393 (37.9)	441 (37)	1834 (37.7)
<b>Others/unknown</b>	451(12.3)	210 (37.6)	661 (13.6)

<b>CDC /AIDS case definition</b>				0
<b>No</b>	2034(55.3)	278(23.7)	2312(47.5)	<.001
<b>Yes</b>	1645(44.7)	914(76.7)	2559(52.5)	

Columns provide number (percentage) unless otherwise specified. IQR: interquartile range, DM: Diabetes Mellitus, MSM: men who have sex with men, IDU: injection drug use, cART: combination antiretroviral therapy, CDC: Centers for Disease Control and Prevention.

<sup>a</sup> Chi-square test

<sup>b</sup> Defined as LDL>159 and/or HDL<40

<sup>c</sup> Defined as use of cART for more than 12 weeks.

**Table 2-** Descriptive statistics and comparisons between diabetic and non-diabetic patients, 1991-2011.

	<b>Non-Diabetic</b>	<b>Diabetic</b>	<b>Total</b>	<b>Missing</b>	<b>p-value<sup>a</sup></b>
<b>Total</b>	4373	498	4871	0	
<b>Death</b>				0	0.484
<b>No</b>	3296 (75.4)	383 (76.9)	3679 (75.5)		
<b>Yes</b>	1077 (24.6)	115 (23.1)	1192 (24.5)		
<b>Dyslipidemia<sup>b</sup></b>				0	< 0.001
<b>No</b>	3414 (78.1)	247 (49.6)	3661 (75.2)		
<b>Yes</b>	959 (21.9)	251 (50.4)	1210 (24.8)		
<b>Gender</b>				0	0.209
<b>Female</b>	1410 (32.2)	175 (35.1)	1585 (32.5)		
<b>Male</b>	2963 (67.8)	323 (64.9)	3286 (67.5)		
<b>Schooling</b>				2.52	0.075
<b>&lt; 6years</b>	2034 (47.8)	215 (43.4)	2249 (47.4)		
<b>6 to 9 years</b>	1017 (23.9)	117 (23.6)	1134 (23.9)		
<b>9 years+</b>	1202 (28.3)	163 (32.9)	1365 (28.7)		
<b>Ethnicity</b>				0.02	0.99
<b>White</b>	2327 (53.5)	266 (53.4)	2593 (53.5)		

<b>Others</b>	2025 (46.5)	232 (46.6)	2257 (46.5)		
<b>Age (years)</b>					
				0	< 0.001
<b>Median (IQR)</b>	34.1 (28,41.2)	41.2 (34,46.8)	34.8 (28.4,42.1)		
<b>Age at diagnosis median (IQR)</b>					
	32.2 (26.5,39.3)	37.7 (31,44.7)	32.8 (26.9,40)	0	< 0.001
<b>Age groups</b>					
				0	< 0.001
<b>18-30</b>	1480 (33.8)	68 (13.7)	1548 (31.8)		
<b>30-40</b>	1618 (37)	165 (33.1)	1783 (36.6)		
<b>40-50</b>	913 (20.9)	172 (34.5)	1085 (22.3)		
<b>50-60</b>	292 (6.7)	71 (14.3)	363 (7.5)		
<b>&gt;60</b>	70 (1.6)	22 (4.4)	92 (1.9)		
<b>Age at diagnosis groups</b>					
				0	< 0.001
<b>0-18</b>	85 (1.9)	2 (0.4)	87 (1.8)		
<b>18-30</b>	1674 (38.3)	105 (21.1)	1779 (36.5)		
<b>30-40</b>	1609 (36.8)	172 (34.5)	1781 (36.6)		
<b>40-50</b>	728 (16.6)	147 (29.5)	875 (18)		
<b>50-60</b>	220 (5)	60 (12)	280 (5.7)		
<b>&gt;60</b>	57 (1.3)	12 (2.4)	69 (1.4)		
<b>Risk Category</b>					
				0	0.042

<b>Heterosexual</b>	1999 (45.7)	254 (51)	2253 (46.3)		
<b>IDU</b>	114 (2.6)	9 (1.8)	123 (2.5)		
<b>MSM</b>	1672 (38.2)	162 (32.5)	1834 (37.7)	0	
<b>Others/unknown</b>	588 (13.4)	73 (14.7)	661 (13.6)		
<b>IDU</b>				0	0.354
<b>Others</b>	4259 (97.4)	489 (98.2)	4748 (97.5)		
<b>IDU</b>	114 (2.6)	9 (1.8)	123 (2.5)		
<b>CD4 counts (cells/mm3) median(IQR)</b>	301.5 (120,520.8)	288 (101,516.8)	300 (117,520)	26.42	0.355
<b>CD4 categories</b>				26.42	0.242
<b>(0,100]</b>	695 (21.9)	103 (24.9)	798 (22.3)		
<b>(100,200]</b>	436 (13.8)	62 (15)	498 (13.9)		
<b>(200,350]</b>	646 (20.4)	66 (15.9)	712 (19.9)		
<b>(350,500]</b>	544 (17.2)	72 (17.4)	616 (17.2)		
<b>&gt;500</b>	849 (26.8)	111 (26.8)	960 (26.8)		
<b>Ever on cART<sup>c</sup></b>				0	< 0.001
<b>No</b>	1287 (29.4)	42 (8.4)	1329 (27.3)		
<b>Yes</b>	3086 (70.6)	456 (91.6)	3542 (72.7)		
<b>CDC /AIDS case definition</b>				0	0.003

<b>No</b>	2108 (48.2)	204 (41)	2312 (47.5)
<b>Yes</b>	2265 (51.8)	294 (59)	2559 (52.5)

<b>Pulmonary Tuberculosis</b>			0	< 0.001
<b>No</b>	3945 (90.2)	425 (85.3)	4370 (89.7)	
<b>Yes</b>	428 (9.8)	73 (14.7)	501 (10.3)	

Columns provide number (percentage) unless otherwise specified. IQR: interquartile range, MSM: men who have sex with men, IDU: injection drug use, cART: combination antiretroviral therapy, CDC: Centers for Disease Control and Prevention.

<sup>a</sup> Chi-square and Mann-Whitney test

<sup>b</sup> Defined as LDL>159 and/or HDL<40

c. Defined as use of cART for more than 12 weeks.

**Table 3.** Final Poisson model<sup>a</sup> with estimated rate ratios (RR) and 95% confidence interval (CI) for the effect of diabetes mellitus on mortality. Data of all cohort participants.

<b>Variable</b>	<b>RR (95% CI)</b>	<b>p-value<sup>b</sup></b>
<b>DM = Yes</b>	1.74 (1.57,1.94)	< .001
<b>Male gender</b>	1.30 (1.21,1.40)	< .001
<b>Age group<sup>c</sup></b>		
<b>20-30</b>	1.04 (0.83,1.30)	.18
<b>30-40</b>	1.16 (0.93,1.43)	.001
<b>40-50</b>	1.45 (1.16,1.81)	< .001
<b>50-60</b>	2.15 (1.70,2.71)	< .001
<b>&gt; 60</b>	2.60 (1.92,3.53)	< .001
<b>CD4cell count<sup>d</sup></b>		
<b>unknown</b>	0.36 (0.33,0.39)	< .001
<b>&gt; 100</b>	0.12 (0.11,0.13)	< .001
<b>cART = Yes</b>	0.33 (0.30,0.37)	< .001
<b>&gt; 9 years schooling</b>	0.76 (0.71,0.81)	< .001
<b>CDC/AIDS case definition=yes</b>	2.29 (2.12,2.48)	
<b>Year<sup>e</sup></b>		
<b>1992</b>	0.92 (0.74,1.14)	.44
<b>1993</b>	0.92 (0.76,1.12)	.41
<b>1994</b>	0.93 (0.77,1.13)	.47
<b>1995</b>	0.75 (0.61,0.91)	.005
<b>1996</b>	0.49 (0.38,0.62)	<.001
<b>1997</b>	0.71 (0.57,0.90)	.004
<b>1998</b>	0.62 (0.48,0.79)	<.001
<b>1999</b>	0.67 (0.53,0.85)	.001
<b>2000</b>	0.61 (0.48,0.78)	<.001
<b>2001</b>	0.75 (0.59,0.94)	.01
<b>2002</b>	0.47 (0.36,0.60)	<.001
<b>2003</b>	0.67 (0.54,0.84)	.001
<b>2004</b>	0.94 (0.75,1.17)	.56

<b>2005</b>	0.92 (0.74,1.14)	.44
<b>2006</b>	0.63 (0.51,0.79)	<.001
<b>2007</b>	0.78 (0.63,0.96)	.02
<b>2008</b>	0.68 (0.55,0.85)	.001
<b>2009</b>	0.72 (0.58,0.90)	.004
<b>2010</b>	0.65 (0.52,0.80)	<.001
<b>2011</b>	0.61 (0.43,0.86)	.02

DM=Diabetes Mellitus, cART=combined antiretroviral therapy, CDC= Centers for Disease Control and Prevention. DM status, calendar year, cART use and CD4 cell counts were treated as time-updated covariables whereas all other covariables were fixed.

<sup>a</sup> From January 1991 to December 2011

<sup>b</sup> obtained with robust variance model

<sup>c</sup> Reference category -0-20 years,

<sup>d</sup> Reference category -  $\leq$  100,

<sup>e</sup> Reference category=1991

**Table 4.** Poisson model with estimated rate ratios (RR) and 95% confidence interval (CI) for the effect of diabetes mellitus on mortality of cohort members, restricted for post-1996 period and cART use.

Variable	Post-1996 <sup>a</sup>		Ever on cART <sup>b</sup>	
	RR (95% CI) <sup>c</sup>	p-value <sup>c</sup>	RR (95% CI) <sup>a</sup>	p-value <sup>c</sup>
<b>DM = Yes</b>	1.95 (1.75,2.18)	< .001	2.17 (1.91,2.46)	< .001
<b>Male gender</b>	1.30 (1.20,1.42)	< .001	1.23 (1.10,1.37)	< .001
<b>Age group<sup>d</sup></b>				
<b>20-30</b>	0.90 (0.71,1.14)	.37	0.49 (0.37,0.64)	< .001
<b>30-40</b>	0.94 (0.75,1.18)	.60	0.49 (0.38,0.64)	< .001
<b>40-50</b>	1.28 (1.01,1.62)	.04	0.61 (0.47,0.80)	< .001
<b>50-60</b>	1.87 (1.45,2.40)	< .001	0.84 (0.64,1.11)	< .001
<b>&gt; 60</b>	2.73 (1.98,3.76)	< .001	1.51 (1.05,2.16)	< .001
<b>CD4 cell count<sup>e</sup></b>				
<b>unknown</b>	0.30 (0.27,0.34)	< .001	0.28 (0.25,0.33)	< .001
<b>&gt; 100</b>	0.11 (0.10,0.12)	< .001	0.16 (0.14,0.17)	< .001
<b>&gt; 9 years schooling<sup>f</sup></b>	0.68 (0.63,0.74)	< .001	0.63 (0.56,0.69)	< .001
<b>CDC/AIDS case definition =Yes</b>	2.32 (2.11,2.55)	< .001	2.83 (2.47,3.25)	< .001
<b>cART = Yes</b>	0.32 (0.29,0.35)	< .001		

DM=Diabetes Mellitus, cART=combined antiretroviral therapy, CDC= Centers for Disease Control and Prevention . DM status, calendar year, cART use and CD4 cell counts were treated as time-updated covariables whereas all other covariables were fixed.

<sup>a</sup> From January 1997 to December 2011

<sup>b</sup> used cART for more than 12 weeks

<sup>c</sup> obtained with robust variance model, adjusted for calendar year

<sup>d</sup> Reference category = 0-20 years

<sup>e</sup> Reference category - <= 100



<sup>f</sup>Reference category - < 9 years schooling

**Table 5.** Causes of death according to diabetes mellitus status

All deaths by major groups		Diabetes Mellitus				p - value <sup>a</sup>
CoDe	Total	No	%	Yes	%	
		1065	100	112	100	
<b>01.1, 01.2, 01</b>	AIDS related	791	74,27	66	58,93	<0.001
<b>02-30</b>	Non-AIDS related	239	22,44	39	34,82	0.004
<b>90 and 92</b>	Unknown	35	3,29	7	6,25	0.10

  

CoDe	All deaths by specific causes	Diabetes Mellitus				p - value <sup>a</sup>
	Total	No	%	Yes	%	
		1065	100	112	100	
<b>01.1</b>	AIDS-infection	476	44,69	39	34,82	0.04
<b>01.2</b>	AIDS-malignancy	56	5,26	16	14,29	<0.001
<b>01</b>	AIDS-not specified	259	24,32	11	9,82	<0.001
<b>8,9,24</b>	Cardiovascular Disease	42	3,94	7	6,25	0.21
CoDe	Cardiovascular subcategories	No	%	Yes	%	
<b>8</b>	MI or ischemic heart disease	14	1.31	2	1.78	0.66
<b>9</b>	Stroke	4	0.37	0	0	0.99
<b>24</b>	Heart or vascular	24	2.26	5	4.47	0.18
<b>90,92</b>	Unknown	35	3,29	7	6,25	0.10
<b>02</b>	Non-AIDS infection	44	4,13	6	5,36	0.46
<b>03</b>	Liver-related	16	1,50	5	4,46	0.04
CoDe	Liver subcategories	No	%	Yes	%	
<b>03.1</b>	HCV	1	0.10	0	0	0.99
<b>03.1.1</b>	HCV with cirrhosis	7	0.66	2	1.78	0.20
<b>03.1.2</b>	HCV with liver failure	4	0.36	1	0.90	0.39
<b>03.2.1</b>	HBV with cirrhosis	2	0.19	0	0	0.99
<b>03.2.2</b>	HBV with liver failure	2	0.19	2	1.78	0.04
<b>4</b>	Non-AIDS malignancy	37	3,47	4	3,57	0.98
<b>5</b>	Diabetes Mellitus	0	0	4	3,57	<0.001

<b>13</b>	Respiratory Disease	7	0,66	2	1,79	0.20
<b>14</b>	Toxicity	7	0,66	2	1,79	0.20
<b>23</b>	Central Nervous System Disease	5	0,47	2	1,79	0.13
<b>6</b>	Pancreatitis	8	0,75	2	1,79	0.24
	Other causes*	8	0,75	2	1,79	0.24
<b>10</b>	Digestive system Disease	7	0,66	1	0,89	0.55
<b>15</b>	Renal Failure	8	0,75	1	0,89	0.59
<b>25</b>	Respiratory Disease	4	0,38	1	0,89	0.39
<b>16</b>	Violence	37	3,47	0	0,00	0.04
<b>17,22</b>	Psychiatric	4	0,38	0	0,00	0.98
<b>20</b>	Hematological Disease	5	0,47	0	0,00	0.98

\*Causes of death for which less than 4 deaths were observed were grouped in the “Other causes” group (CoDe

11, 12, 19,27 and 28). HCV=hepatitis C virus; HBV=hepatitis B virus; MI=myocardial Infarction

<sup>a</sup> Chi-square and Fisher exact test

## **5.2 Publicação do objetivo específico #2 sob a forma de artigo.**

### **HIV infection is not associated with aortic stiffness. Traditional cardiovascular risk factors are the main determinants – Cross sectional results of INI-ELSA-BRASIL**

Authors and affiliations:

Rodrigo C Moreira<sup>1,3</sup>, José G Mill<sup>2</sup>, Beatriz Grinsztejn<sup>1</sup>, Valdilea Veloso<sup>1</sup>, Maria de Jesus Fonseca<sup>4</sup>, Rosane H Griep<sup>5</sup>, Isabela Bensenor<sup>6</sup>, Sandra Wagner Cardoso<sup>1</sup>, Paulo Lotufo<sup>6</sup>, Dora Chor<sup>4</sup>, Antonio Guilherme Pacheco<sup>3 §</sup>, for the INI ELSA BRASIL

<sup>1</sup> Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>2</sup> Federal University of Espírito Santo, Departamento de Ciências Fisiológicas, Vitória, Brazil

<sup>3</sup> Fundação Oswaldo Cruz, Programa de Computação Científica, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>4</sup> Fundação Oswaldo Cruz, Departamento de Epidemiologia e Métodos Quantitativos em Saúde, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>5</sup> Fundação Oswaldo Cruz, Laboratory of Health and Environment Education, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>6</sup> University of São Paulo, School of Medicine, São Paulo, Brazil

Running Head: HIV infection is not associated with aortic stiffness

## **Abstract**

**Introduction:** Aortic stiffness measured by carotid-femoral pulse wave velocity (cf-PWV) is a marker of subclinical atherosclerosis. We propose to assess if HIV infection is associated with arterial stiffness and their determinants in HIV infected subjects.

**Methods:** We compared data from an HIV cohort (644 patients, HIV+) in Rio de Janeiro with two groups: 105 HIV-negative (HIV-) individuals and 14,873 participants of the ELSA-Brasil study. We used multivariable linear regression to investigate factors associated with cf-PWV and whether HIV was independently associated with aortic stiffness and propensity score weighting to control for imbalances between groups.

### **Results:**

From 15,860 participants cf-PWV was obtained in 15,622 (98.5%). Median age was 51 [interquartile range (IQR) 45-58], 44.41 [35.73,54.72] and 43.60 [36.01,50.79] years ( $p < 0.001$ ) and median cf-PWV (m/s; IQR) was 9.0 (8.10,10.20), 8.70 (7.90,10.20) and 8.48 (7.66,9.40) for ELSA-Brasil, HIV- and HIV+ respectively ( $p < 0.001$ ). In the final weighted multivariable models, HIV group was not associated with cf-PWV when compared either to ELSA-Brasil ( $\beta = -0.05$ ; 95%CI=-0.23;p=0.12;  $p=0.52$ ) or to the HIV- groups ( $\beta = 0.10$ ; 95% CI=-0.10;0.31;p=0.32). Traditional risk factors were associated to higher cf-PWV levels in the HIV<sup>+</sup> group, particularly waist to hip ratio ( $\beta = 0.20$ ; 95%CI=0.10;0.30;  $p < 0.001$ , result per one standard deviation change).

**Conclusion:** HIV infection was not associated with higher aortic stiffness according to our study. In HIV infected subjects the stiffness of large arteries is mainly associated to traditional risk factors and not to the HIV infection *per se*.

**Key words:** People Living with HIV; Cardiovascular risk factors; Arterial Stiffness

## **Introduction**

After widespread use of antiretroviral therapy (ARV), the decreasing incidence of opportunistic diseases has been followed by the emergence of diseases not traditionally linked to HIV infection, especially cardiovascular diseases (CVDs), which have become important causes of morbidity and mortality among people living with HIV/AIDS (PLWHA) either in developed or in developing countries, including Brazil<sup>1,2</sup>. Epidemiologic studies suggest that PLWHA are at increased risk of CVD when compared to the general population<sup>3-5</sup>. Current understanding of the etiology involves a complex interplay between inflammation and endothelial dysfunction, eventually leading to the process of atherosclerosis.

In this particular scenario, a higher prevalence of traditional cardiovascular (CV) risk factors followed by persistent viral activity resulting in immune activation and systemic inflammation has been observed<sup>6,7</sup>. Moreover, in spite of certain regimens of ARV, which have been initially implicated with an excess risk of CVD throughout deregulation of lipid and glucose metabolism, recent studies showed that earlier initiation and continuous use of ART could actually improve CV outcomes<sup>8-10</sup>. These findings indicate that non traditional factors such as viral replication, might explain a higher CV risk in PLWHA.

To investigate subclinical atherosclerosis and the pathogenesis of CVD, several methods have been employed. Arterial stiffness, measured as the aortic pulse wave velocity between the carotid and femoral arteries (cf-PWV), is a non-invasive and reproducible technique, which has shown to predict CV events in healthy subjects<sup>11,12</sup>. Preliminary investigations showed that HIV infection and certain classes of ARVs were associated with an increased cf-PWV. However, these

results are inconsistent and a limited number of those studies have been conducted in large adult population settings <sup>13-15</sup>.

Even though data from Brazil about the transition of the morbi-mortality profile in PLWHA are scarce, we recently demonstrated a significant decrease in the global mortality rates driven by AIDS-related causes with an increase indication of CVD conditions as causes of death in HIV infected subjects <sup>16-18</sup>.

Moreover, there is a lack of studies and methods evaluating subclinical atherosclerosis in PLWHA in middle-income countries. Recently, we characterized the risk factors for carotid intima media thickness (cIMT) in a significant sample of a Brazilian PLWHA cohort <sup>19</sup> and later we found no association between HIV infection and early atherosclerosis, also measured by cIMT <sup>20</sup>.

Hence, in this study we propose to compare cf-PWV among three groups of subjects: one infected with HIV and two non-HIV infected and to determine variables associated with arterial stiffness in HIV infected individuals.

## **Methods**

### **Study design and participants**

We conducted a cross-sectional study comparing data from three different groups of individuals. The first group, herein after referred as HIV+ group, was a sample of 649 HIV-infected patients prospectively followed in the Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) cohort in Rio de Janeiro, a national reference center for infectious diseases, especially for



care, research, and training related to HIV/AIDS since 1986. An observational and clinical database available in electronic and paper records is maintained, with PLWHA receiving primary, specialty, and tertiary HIV care at its facilities. Participants were invited to join this study while waiting for their consultations (clarifying that their consultation and treatment follow-up would not depend of their participation), if they were between ages of 25 and 75 and under active follow-up at INI outpatient clinic.<sup>18</sup> The second group consisted of 106 individuals who were HIV-negative (HIV-) recruited based on HIV + participant's nomination at the day of the main study procedures. The eligibility criteria was: age 25 to 75 years, partner, spouse, relative, co-worker, or someone in the neighbourhood of the HIV+ participant who had an anti-HIV rapid screen test negative at study entry. The third group was composed by participants of the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil study), a prospective cohort of 15.105 active or retired public servants of both sexes with ages between 35 and 74 years from 5 universities and one research institution. Its aim is to investigate the incidence and risk factors for chronic diseases, in particular, cardiovascular diseases and diabetes <sup>21</sup>. Baseline data for the ELSA-Brasil group was collected from 2008 to 2010 <sup>22</sup> whereas data for the other two groups, were collected using the same protocols, equipment, and technical staff between January 2011 and January 2012. The study was approved by the Comitê de Ética em Pesquisa from INI, the local institutional review board.

### **Data collection**

After participants had signed an informed consent form, all three groups went through the same baseline examination of the ELSA-Brasil study. This included detailed questionnaires' interviews, covering socio-demographics, family history, medication exposure and comorbidity

characteristics. In addition, clinical and anthropometric examinations, oral glucose tolerance test and blood samples were collected for a complete laboratory evaluation <sup>23</sup>. HIV cohort-specific information was also obtained, including use of cART, regimens, and the time in years on each regimen, current CD4 counts, viral loads, cytomegalovirus (CMV). Nadir CD4 counts and previous HIV viral load measurement were obtained from the medical charts in the cohort's database. Aortic stiffness was measured using cf-PWV with a validated and non-invasive automatic device (Complior SP; Artech Medical, Paris, France). Systolic and diastolic blood pressures were recorded at the day of cf-PWV examination. More detailed description of procedures can be found elsewhere <sup>21,22,24-26</sup>.

Variables were defined or calculated as follows. Race/ethnicity was self-referred and categorized into black, brown, white and others. The last category comprises indigenous (native Brazilian) and Asiatic participants. Diabetes mellitus (DM) was defined as having glycated hemoglobin >6.5% or fasting glucose > 126 mg/dL, or oral glucose tolerance test levels > 200 mg/dL or current use of a hypoglycemic drug. Resting blood pressure was measured three times in the non-dominant arm in the sitting position and hypertension was ascertained if the mean of the last 2 measurements showed systolic blood pressure  $\geq$ 140 mmHg or diastolic blood pressure  $\geq$  90 mmHg or if in use of anti-hypertensive drugs. Dyslipidemia was defined as low-density lipoprotein (LDL) levels  $\geq$  130 mg/dL or use of lipid-lowering drugs. Cumulative smoking was calculated as pack-years, by multiplying the number of packs smoked per day by the number of years of smoking and a heavy smoker a person who has smoked >10 pack-year. Family history of sudden death and family history of acute myocardial infarction (AMI) or stroke were defined as the informed occurrence of any episode of those conditions among parents or brothers younger

than 65 years of age. History of CVD was defined as informed past occurrence of angina, AMI or stroke. Body mass index (BMI) was calculated as the ratio of measured weight in kilograms and squared height in meters. Cumulative viral load (VL; viremia copy-years) was defined as the area under the curve for two consecutive viral load measurements over time, in years<sup>27</sup>. Estimated Glomerular filtration rate (eGFR) was calculated with the CKD-Equation<sup>28</sup>. A variable to capture poor clinical management of hypertension, DM or dislipidemia was defined as if a participant or patient reported no history of any one of these conditions and was taking no medication for them but was diagnosed with any of those conditions at the time of entry in the study.

### **Statistical analysis**

Descriptive comparisons of general characteristics among HIV+, HIV- and ELSA-Brasil groups and general characteristics of HIV infected participants, compared according to terciles of cf-PWV were carried out with Kruskal-Wallis tests for continuous and chi-squared or Fisher exact tests for categorical variables. Data were expressed as median [interquartile range] (IQR) or frequency (%) where applicable.

To evaluate the association between cf-PWV and HIV+, linear regression models were used. We made two comparisons separately: 1) HIV+ group with the ELSA-Brasil group and 2) HIV+ group with the HIV- group. In order to choose the best multivariable model explaining cf-PWV values we used an exhaustive procedure implemented by a genetic algorithm<sup>29</sup>. The procedure was also replicated 20 times and the overall best model was chosen.

To account for imbalances between comparison groups, we implemented propensity scores (PS) to identify control units (ELSA-Brasil and HIV- groups) that were similar to treated

units (HIV+ group). As method of estimation we used the average treatment effect on the treated (ATT). Hence, for the first comparison (HIV+ and ELSA-Brasil groups) we chose the nearest neighbor matching algorithm, without replacement using calliper width equal to 0.05 of the PS logit standard deviation. For the outcome analysis we created a matched data set to run the cf-PWV regression. In the second comparison (HIV+ and HIV- groups), generalized boosted modelling (GBM) was used as a non-parametric estimation of the PS. The number of GBM interaction trees was added until standardized mean difference (SMD) in covariates was minimized while working with the maximum SMD as stopping rule. The ATT weights was saved as variable into the original dataset and then applied as probability weights in the final linear weighted regression model.<sup>30,31</sup> In both analysis, the quality of covariable balance was checked graphically with Q-Q plots and trough SMD below 0.25 after PS application, adding Kolmogorov-Smirnov (KS) statistics for the second comparison, (see Table 6, supplementary digital content 1 – Summary of balance metrics for propensity score matching between HIV+ and ELSA-Brasil groups and Table 7– Summary of balance metrics for propensity score estimated with generalized boosted modeling between HIV+ and HIV- groups.), with all variables reaching balance with the exception of age, income and triglycerides in the parametric procedure so these covariables were included in the final weighted linear model to take into account the residual confounding.

For the first analysis, we have generated 4 models for comparison: 1. a naïve univariable model, for reference; 2. a full model with all the covariables chosen by the genetic algorithm, described above, which yielded different sets of variables for each comparison; 3. a univariable propensity-scores weighted model; 4. a full model with the variables that did not reach balance

graphically for the first comparison and for the second comparison, the same variables used to calculate the propensity scores, in order to control for residual confounding.

Finally, to study factors associated with arterial stiffness in the HIV+ group, the best multivariate linear model was also chosen using the genetic algorithm described before.

All analyses were performed with the R environment version 3.2.2. For the parametric and non-parametric estimation we adopted the *MatchIt* and *twang* packages respectively<sup>32</sup>.

## **Results**

We included 15,860 subjects. Arterial stiffness was measured in 14,873, 105 and 644 from ELSA-Brasil, HIV- and HIV+ groups, respectively. Overall 45.69; 35.24 and 57.92 % of subjects were male ( $p<0.001$ ), median age (IQR) was 51 (45-58); 44.41 (35.7,54.7) and 43.6 (36.0,50.78 years ( $p<0.001$ ) and median cf-PWV in m/s was 9.0 (8.1,10.2), 8.70 (7.9,10.2) and 8.48 (7.7,9.4) for ELSA-Brasil, HIV- and HIV+ respectively ( $p<0.001$ ).

Regarding characteristics of the HIV+ group they were younger, had a higher proportion of schooling <9 years and were predominantly males and blacks. Even though they presented higher proportion of current and heavy (>10 pack-years) smokers and family history of sudden death, they also exhibited a better lipid profile and less frequently dyslipidemia and hypertension, lower BMI, although there is overlap among confidence intervals and lower C-reactive protein levels with better renal function and improved management of CVD-related conditions than the other two groups. The ELSA-Brasil group presented older age, higher median income and schooling years, higher proportion of dyslipidemia as well as increased lipid profile and median

hs-CRP but lower CKD-epi median. Although prevalences were not adjusted for age, it is worth mentioning that individuals from ELSA-Brasil exhibited a lower percentage of DM, albeit they were older (Table 1).

Information about ART use, specific regimens and HIV specific lab tests are shown in Table 4. At enrollment, 569 (88.63%) participants were under ART for an average of 4.91 years (IQR:2.28;11.02), most commonly on a regimen containing non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (65.01%). Median current CD4 cell count was 579.86 (IQR:370,740) cells/ml, with a nadir of 214 (IQR:95.25,315.75) cells /ml and undetectable viral load in 452 (71.07%) individuals.

#### **Comparison of cf-PWV between HIV+ with ELSA-Brasil and HIV+ with HIV- groups**

Univariable and multivariable linear models revealed higher levels of cf-PWV in the ELSA-Brasil group when compared to the HIV+ group (Table 2). In the unweighted model age, being male, presenting hypertension diabetes mellitus or dyslipidemia, use of antidiabetic drugs, serum creatinine, triglycerides, C-reactive protein, systolic and diastolic blood pressure had a positive association with cf-PWV levels. The magnitude of association was higher for waist to hip/ratio ( $\beta= 0.10$ ; 95%CI= 0.07;0.14;  $p<0.001$ , result per one standard deviation change). Protective factors were schooling  $>9$  years, being an ex- smoking, family history of CVD, antihypertensive and lipid-lowering medication use.

When the HIV- group was used as control (Table 3), no association was seen between the HIV+ group and cf-PWV either in unweighted or weighted multivariable models. In this case the unweighted model yielded age, female gender, hypertension, systolic and diastolic blood pressure

as predictive of increased cf-PWV. Once more, the association was stronger for waist to hip/ratio ( $\beta= 0.17$ ; 95%CI= 0.07; 0.27;  $p<0.001$ , result per one standard deviation change).

### **Determinants of cf-PWV in the HIV infected population**

In the crude analysis, age, smoking 10+pack-years, family history of AMI or stroke and other traditional CVD risk factors were associated with higher terciles of cf-PWV, whereas HIV-specific characteristics were ART use, particularly with a Protease Inhibitor (PI)-containing regimen, time under ART in years, increased current CD4 cell count, lower nadir of CD4 cell count and higher cumulative viral load (Table 4). Nevertheless, in the multivariable regression analysis, age, family history of sudden death, hypertension, antihypertensive medication use, waist to hip ratio, triglycerides and systolic and diastolic blood pressure were predictors of increased cf-PWV (Table 5).

### **Discussion**

In our study we have found no difference of cf-PWV when we compared either ELSA-Brasil to the HIV+ groups or the HIV+ with the HIV- groups, both in unweighted and weighted multivariable models. Moreover, traditional cardiovascular risk factors were the main determinants of arterial stiffness in HIV infected participants. To our knowledge, this is the first study to compare arterial stiffness in a considerably large sample of participants in a middle-income country using a rich set of covariables.

Authors from different countries have reported increased cf-PWV in HIV infected when compared to HIV uninfected participants<sup>33-36</sup>. In contrast, results from several other studies revealed no association between arterial stiffness and HIV infection<sup>37,38</sup>. In Brazil, a study

carried out by Monteiro et al. in two HIV/AIDS referral centers did not find significant differences in cf-PWV between PLWHA and uninfected controls, divergent from Eira et al. who found increased cf-PWV in HIV infected patients under cART, particularly among women<sup>39,40</sup>.

Still, our findings are in conformity with the latest evidence, which demonstrates no association between HIV infection and cf-PWV. For instance, Ho et al. showed that initiation of antiretroviral therapy at higher nadir CD4+ T-cell counts was associated with reduced arterial stiffness in PLWHA<sup>15</sup>. In addition, Echeverria et al. demonstrated similar arterial stiffness in PLWHA compared to non-HIV-infected participants<sup>37</sup>. In this scenario roughly 90% of PLWHA were currently under ART with a high median CD4 cell count, similar to our results.

States of immune activation with chronic inflammation are linked to endothelial dysfunction and increased arterial stiffness through vessel loss of collagen and elastin<sup>41</sup>. The better management of CVD related conditions as a result of free access to health care system in combination with regular visits to specialists and cART use might have mitigated the detrimental effects of HIV infection, likewise the inflammation in the vascular wall whereby we have demonstrated before<sup>20</sup>. This is an important piece of information to be explored in further studies aiming primary prevention.

Furthermore, being black is a well known established risk factor for cardiovascular disease<sup>42</sup>. The mechanism seems to involve endothelial dysfunction with reduced bioavailability of nitric oxide<sup>43</sup>. There is evidence pointing an association of black race with impaired microvascular function and greater arterial stiffness<sup>43</sup> but we did not find racial differences in cf-PWV.



After adjustment for traditional cardiovascular risk factors, education, which is usually adopted as a proxy for socioeconomic status, was an important characteristic to explain cf-PWV variation, with lower levels of education expressed in years associated with higher arterial stiffness. The mechanism is closely related to disadvantaged trajectory of life with higher exposure to infections, toxins and pollution, tobacco use, physical inactivity, diet rich in saturated fats and other exposures associated with the occurrence of CVD <sup>44</sup>.

In respect to traditional CVD risk factors, our results are in consonance with the findings of the great majority of the main determinants of arterial stiffness found in the literature <sup>45</sup>. We observed older age, sex, hypertension, diabetes mellitus, dyslipidemia, serum creatinine, triglycerides, C-reactive protein and systolic and diastolic blood pressure being positively associated with cf-PWV levels, with the greatest magnitude of association for waist to hip ratio in both comparison groups. Abdominal adiposity has been recognized as an independent risk factor for CVD in addition to other anthropometric measures and overweight has become epidemic in many middle income countries, which calls urgent attention to preventive measures targeting weight reduction <sup>46</sup>.

Concerning HIV related factors of arterial stiffness; previous work indicated profound immunodeficiency by a nadir CD4 cell count less than 200 cells/ml as an independent predictor of increased cf-PWV<sup>38</sup>, which calls for early initiation of ART. In multivariable analysis the association between nadir of CD4 and cf-PWV was marginal.

ART also plays a pivotal role on this topic. Toxicity of some regimens, mainly by its metabolic effects, such as insulin resistance, dyslipidemia and fat redistribution have been linked

to an increased arterial stiffness and cardiovascular risk, particularly with protease inhibitors. However, recent data point out beneficial cardiovascular effects of continuous and early initiation of ART mediated by the control of immune activation inducing vascular health <sup>9,10</sup>. Herein our HIV infected participants had almost ninety percent use of ART. In spite of lack of information about adherence, it helps explain the good virologic control of this population.

In our results the contribution of HIV-related covariables when present in the final adjusted model, were non-significant <sup>36</sup>. Moreover, using similar methodology and comparing data from the same population we previously reported no relationship between carotid intima-media thickness (cIMT) and HIV infection <sup>20</sup>.

In general, 1) cf-PWV might be a weak surrogate for CVD in this setting as it has better predictive ability for subjects with higher baseline risk when compared to the general population <sup>12</sup>. 2) HIV association with CVD has been exaggerated in the literature by the inclusion of HIV-control groups with lower prevalences of CV risk factors when compared to the HIV group, unmeasured confounding, and competing risks such as HIV related deaths, which represent limitations in the analysis <sup>47</sup>. 3) The association between CVD and HIV has been attenuated by the use of less toxic ARV regimens and control of comorbidities <sup>48</sup>. In our scenario, NNRTIs was the most common used regimen which usually have fewer toxicities concerns than PIs <sup>49</sup>.”

The cross-sectional nature of the study imposes some limitations; first if PLWHA with higher cf-PWV values have died from CVD and only persons with better prognosis who survived enough would have been enrolled into the study this would lead to an underestimation in the relationship between arterial stiffness and HIV infection. However, as many years are necessary

to develop arterial stiffness and the manifestation of a clinical CVD, it is unlikely that this fact have played a major role in our findings.

Another potential limitation was the selection of friend controls as HIV- group. This strategy was aimed at comparing a group with similar characteristics of PLWHA. However, we actually found elevated heterogeneity among the three groups (table 1) and to create a valid comparison we implemented the propensity score analysis, which yielded similar results for comparisons between HIV+ and HIV- groups. In addition, HIV serostatus for the ELSA-Brasil study participants is unknown. Nevertheless we expect a limited impact on the results since HIV prevalence in Brazilian population is low (0.4%)<sup>50</sup> and this sample is comprised of public workers, who tend to be healthier than the general population.

In conclusion, HIV infection was not associated with higher aortic stiffness in a large sample of participants in Brazil. Traditional risk factors were the main determinants of increased cf-PWV in the HIV infected population. Based on ours and previous results, public policies aiming at offering careful attention to the management of traditional CV risk factors, especially among those with low socioeconomic position, with an emphasis to strategies targeting those overweight or presenting abdominal adiposity, which are key to prevent CVD in the HIV infected population.

### **Competing interests**

The authors have no competing interests to declare.

### **Acknowledgements and funding**

This work has been supported by the Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro [E-26/102398/ 2009 to DC and E-26/201.471/2014 to AP]; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico [grant numbers 01 06 0010.00 RS, 01 06 0212.00 BA, 01 06 0300.00 ES, 01 06 0278.00 MG, 01 06 0115.00 SP, 01 06 0071.00 RJ, 407446/2012-5 to AP and 304614/2012-2 to AP]; Programa Estratégico de Apoio à Pesquisa em Saúde [407446/2012-5 to AP]. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

### **Authors' contributions**

Conceived and designed the study: JGM BG VV MJF RG IB PL DC AP. Performed the experiments: JGM BG VV MJF RG IB PL DC AP Analyzed the data: AP RCM. Contributed reagents/materials/analysis tools: AP. Wrote the paper: RCM BG VV AP DC. All authors have read and approved the final manuscript

### **References**

1. Braitstein P, Brinkhof MW, Dabis F, et al. Mortality of HIV-1-infected patients in the first year of antiretroviral therapy: comparison between low-income and high-income countries. *Lancet*. 2006;367(9513):817-824.
2. Brito AM, Castilho EA, Szwarcwald CL. Regional patterns of the temporal evolution of the AIDS epidemic in Brazil following the introduction of antiretroviral therapy. *The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*. 2005;9(1):9-19.
3. Freiberg MS, Chang CC, Kuller LH, et al. HIV infection and the risk of acute myocardial infarction. *JAMA internal medicine*. 2013;173(8):614-622.

4. Quiros-Roldan E, Raffetti E, Foca E, et al. Incidence of cardiovascular events in HIV-positive patients compared to general population over the last decade: a population-based study from 2000 to 2012. *AIDS care*. 2016;28(12):1551-1558.
5. D'Ascenzo F, Cerrato E, Biondi-Zoccai G, et al. Acute coronary syndromes in human immunodeficiency virus patients: a meta-analysis investigating adverse event rates and the role of antiretroviral therapy. *European heart journal*. 2012;33(7):875-880.
6. Triant VA, Lee H, Hadigan C, Grinspoon SK. Increased acute myocardial infarction rates and cardiovascular risk factors among patients with human immunodeficiency virus disease. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2007;92(7):2506-2512.
7. Petoumenos K, Worm S, Reiss P, et al. Rates of cardiovascular disease following smoking cessation in patients with HIV infection: results from the D:A:D study(\*). *HIV medicine*. 2011;12(7):412-421.
8. Ledergerber B, Furrer H, Rickenbach M, et al. Factors associated with the incidence of type 2 diabetes mellitus in HIV-infected participants in the Swiss HIV Cohort Study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2007;45(1):111-119.
9. Strategies for Management of Antiretroviral Therapy Study G, El-Sadr WM, Lundgren J, et al. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *The New England journal of medicine*. 2006;355(22):2283-2296.
10. Group ISS, Lundgren JD, Babiker AG, et al. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *The New England journal of medicine*. 2015;373(9):795-807.
11. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*. 2001;37(5):1236-1241.
12. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010;55(13):1318-1327.
13. Sevastianova K, Sutinen J, Westerbacka J, Ristola M, Yki-Jarvinen H. Arterial stiffness in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Antiviral therapy*. 2005;10(8):925-935.
14. Charakida M, Loukogeorgakis SP, Okorie MI, et al. Increased arterial stiffness in HIV-infected children: risk factors and antiretroviral therapy. *Antiviral therapy*. 2009;14(8):1075-1079.

15. Ho JE, Deeks SG, Hecht FM, et al. Initiation of antiretroviral therapy at higher nadir CD4+ T-cell counts is associated with reduced arterial stiffness in HIV-infected individuals. *Aids*. 2010;24(12):1897-1905.
16. Paula AA, Schechter M, Tuboi SH, et al. Continuous increase of cardiovascular diseases, diabetes, and non-HIV related cancers as causes of death in HIV-infected individuals in Brazil: an analysis of nationwide data. *PloS one*. 2014;9(4):e94636.
17. Pacheco AG, Tuboi SH, May SB, et al. Temporal changes in causes of death among HIV-infected patients in the HAART era in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2009;51(5):624-630.
18. Grinsztejn B, Luz PM, Pacheco AG, et al. Changing mortality profile among HIV-infected patients in Rio de Janeiro, Brazil: shifting from AIDS to non-AIDS related conditions in the HAART era. *PloS one*. 2013;8(4):e59768.
19. Pacheco AG, Grinsztejn B, da Fonseca Mde J, et al. Traditional risk factors are more relevant than HIV-specific ones for carotid intima-media thickness (cIMT) in a Brazilian cohort of HIV-infected patients. *PloS one*. 2015;10(2):e0117461.
20. Pacheco AG, Grinsztejn B, Fonseca Mde J, et al. HIV Infection Is Not Associated with Carotid Intima-Media Thickness in Brazil: A Cross-Sectional Analysis from the INI/ELSA-Brasil Study. *PloS one*. 2016;11(7):e0158999.
21. Schmidt MI, Duncan BB, Mill JG, et al. Cohort Profile: Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *International journal of epidemiology*. 2015;44(1):68-75.
22. Aquino EM, Barreto SM, Bensenor IM, et al. Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil): objectives and design. *American journal of epidemiology*. 2012;175(4):315-324.
23. Bensenor IM, Griep RH, Pinto KA, et al. Rotinas de organização de exames e entrevistas no centro de investigação ELSA-Brasil. *Revista de saude publica*. 2013;47:37-47.
24. Baldo MP, Cunha RS, Ribeiro ALP, et al. Racial Differences in Arterial Stiffness are Mainly Determined by Blood Pressure Levels: Results From the ELSA-Brasil Study. *Journal of the American Heart Association*. 2017;6(6).
25. Peixoto de Miranda EJ, Bittencourt MS, Goulart AC, et al. Lack of Association Between Subclinical Hypothyroidism and Carotid-Femoral Pulse Wave Velocity in a Cross-Sectional Analysis of the ELSA-Brasil. *American journal of hypertension*. 2017;30(1):81-87.
26. Baena CP, Lotufo PA, Mill JG, Cunha Rde S, Bensenor IJ. Serum Uric Acid and Pulse Wave Velocity Among Healthy Adults: Baseline Data From the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *American journal of hypertension*. 2015;28(8):966-970.

27. Mugavero MJ, Napravnik S, Cole SR, et al. Viremia copy-years predicts mortality among treatment-naive HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2011;53(9):927-935.
28. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Annals of internal medicine*. 2009;150(9):604-612.
29. V. Calcagno CdM. glmulti: An R Package for Easy Automated Model Selection with (Generalized) Linear Models. *Journal of Statistical Software*. 2010;34(12).
30. Ho DE, Imai, K., King, G., and Stuart, E. A. (Forthcoming). MatchIt: Nonparametric Preprocessing for Parametric Causal Inference. 2011, 2017.
31. McCaffrey DF, Griffin BA, Almirall D, Slaughter ME, Ramchand R, Burgette LF. A tutorial on propensity score estimation for multiple treatments using generalized boosted models. *Statistics in medicine*. 2013;32(19):3388-3414.
32. Team RC. R: A Language and Environment for Statistical Computing. 2015; R Foundation for Statistical Computing. Available at: <https://http://www.R-project.org/>.
33. Baker JV, Duprez D, Rapkin J, et al. Untreated HIV infection and large and small artery elasticity. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2009;52(1):25-31.
34. Lekakis J, Ikonomidis I, Palios J, et al. Association of highly active antiretroviral therapy with increased arterial stiffness in patients infected with human immunodeficiency virus. *American journal of hypertension*. 2009;22(8):828-834.
35. Zeng Y, Ye YC, Luo L, et al. Premature atherosclerosis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Chinese medical journal*. 2010;123(23):3396-3399.
36. Kooij KW, Schouten J, Wit FW, et al. Difference in Aortic Stiffness Between Treated Middle-Aged HIV Type 1-Infected and Uninfected Individuals Largely Explained by Traditional Cardiovascular Risk Factors, With an Additional Contribution of Prior Advanced Immunodeficiency. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2016;73(1):55-62.
37. Echeverria P, Bonjoch A, Molto J, et al. Pulse wave velocity as index of arterial stiffness in HIV-infected patients compared with a healthy population. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2014;65(1):50-56.
38. Maia-Leite LH, Catez E, Boyd A, et al. Aortic stiffness aging is influenced by past profound immunodeficiency in HIV-infected individuals: results from the EVAS-HIV (EValuation of Aortic Stiffness in HIV-infected individuals). *Journal of hypertension*. 2016;34(7):1338-1346.
39. Monteiro P, Miranda-Filho DB, Bandeira F, et al. Is arterial stiffness in HIV-infected individuals associated with HIV-related factors? *Brazilian journal of medical and*

*biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica ... [et al.]. 2012;45(9):818-826.*

40. Eira M, Bensenor IM, Dorea EL, Cunha RS, Mill JG, Lotufo PA. Potent antiretroviral therapy for human immunodeficiency virus infection increases aortic stiffness. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2012;99(6):1100-1107.
41. Nou E, Lo J, Grinspoon SK. Inflammation, immune activation, and cardiovascular disease in HIV. *Aids*. 2016;30(10):1495-1509.
42. Ferdinand KC. Coronary artery disease in minority racial and ethnic groups in the United States. *The American journal of cardiology*. 2006;97(2A):12A-19A.
43. Morris AA, Patel RS, Binongo JN, et al. Racial differences in arterial stiffness and microcirculatory function between Black and White Americans. *Journal of the American Heart Association*. 2013;2(2):e002154.
44. Adler NE, Newman K. Socioeconomic disparities in health: pathways and policies. *Health affairs*. 2002;21(2):60-76.
45. Leite LHM, Cohen A, Boccarda F. HIV infection and aortic stiffness. *Archives of cardiovascular diseases*. 2017.
46. de Koning L, Merchant AT, Pogue J, Anand SS. Waist circumference and waist-to-hip ratio as predictors of cardiovascular events: meta-regression analysis of prospective studies. *European heart journal*. 2007;28(7):850-856.
47. Wilson DP, Islam FM, Wu J, Jansson J. A critical epidemiological review of cardiovascular disease risk in HIV-infected adults: the importance of the HIV-uninfected comparison group, confounding, and competing risks--authors' reply. *HIV medicine*. 2013;14(3):193-194.
48. Klein DB, Leyden WA, Xu L, et al. Declining relative risk for myocardial infarction among HIV-positive compared with HIV-negative individuals with access to care. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2015;60(8):1278-1280.
49. Usach I, Melis V, Peris JE. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors: a review on pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability. *Journal of the International AIDS Society*. 2013;16:1-14.
50. Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde - Programa Nacional de DST; Aids e Hepatites Virais. *Boletim Epidemiológico - HIV/AIDS*. Brasília: Ministério da Saúde;2014.



Table 1 –General characteristics of participants stratified by groups <sup>a</sup>.

	<i>Groups</i>				<i>p value<sup>b</sup></i>
	<b>ELSA-Brasil</b>	<b>HIV -</b>	<b>HIV +</b>	<b>Total</b>	
<b>Total</b>	14873	105	644	15622	
<b>Sex: Male</b>	6795 (45.69)	37 (35.24)	373 (57.92)	7205 (46.12)	< <b>0.001</b>
<b>Age in years – median (IQR)</b>	51 (45,58)	44.41 (35.73,54.72)	43.60 (36.01,50.79)	51 (45,58)	< <b>0.001</b>
<b>Schooling: &lt;9 years</b>	1887 (12.69)	59 (56.19)	308 (47.83)	2254 (14.43)	< <b>0.001</b>
<b>Race</b>					< <b>0.001</b>
<b>Black</b>	2357 (16.04)	23 (21.90)	147 (22.83)	2527 (16.36)	
<b>Brown</b>	4134 (28.13)	39 (37.14)	258 (40.06)	4431 (28.69)	
<b>White</b>	7680 (52.27)	38 (36.19)	212 (32.92)	7930 (51.35)	
<b>Others</b>	523 (3.56)	5 (4.76)	27 (4.19)	555 (3.59)	
<b>Smoking</b>					< <b>0.001</b>
<b>Never</b>	8483 (57.04)	60 (57.14)	320 (49.69)	8863 (56.74)	
<b>Former</b>	4449 (29.92)	24 (22.86)	172 (26.71)	4645 (29.74)	
<b>Current</b>	1940 (13.04)	21 (20)	152 (23.60)	2113 (13.53)	

<b>Pack.years (10+)</b>	3454 (23.33)	22 (20.95)	175 (27.22)	3651 (23.47)	<b>0.062</b> 2
<b>Income (R\$) – median (IQR)</b>	1347.12 (725.38,2279.75)	414.50 (207.25,639.02)	414.50 (207.25,1036.25)	1312.58 (690.83,2072.50)	< <b>0.001</b>
<b>Family History of Sudden Death</b>	2223 (14.95)	15 (14.29)	120 (18.63)	2358 (15.09)	<b>0.036</b> 9
<b>Family History of AMI or Stroke</b>	4008 (26.95)	36 (34.29)	175 (27.17)	4219 (27.01)	<b>0.239</b> 7
<b>History of CVD</b>	805 (5.41)	8 (7.62)	49 (7.61)	862 (5.52)	<b>0.036</b> 8
<b>Total cholesterol (mg/dL) – median (IQR)</b>	211 (186,239)	186 (162,214)	182 (156,211)	210 (185,238)	< <b>0.001</b>
<b>HDL (mg/dL) – median (IQR)</b>	54 (46,65)	44 (37,53)	42 (35,51)	54 (46,64)	< <b>0.001</b>
<b>LDL (mg/dL) – median (IQR)</b>	129 (107,152)	114 (95,136)	106 (87,133)	128 (106,151)	< <b>0.001</b>
<b>Triglycerides (mg/dL) – median (IQR)</b>	114 (81,165)	100 (69,135)	120 (85,185)	115 (81,166)	< <b>0.001</b>

---

<b>Dyslipidemia</b>	8601 (57.85)	40 (38.10)	235 (37.24)	8876 (56.89)	< <b>0.001</b>
<b>Use of lipid-lowering drugs</b>	1915 (12.88)	8 (7.62)	88 (13.66)	2011 (12.87)	<b>0.229</b> 5
<b>Hypertension</b>	5598 (37.64)	45 (42.86)	201 (31.21)	5844 (37.41)	<b>0.002</b> 2
<b>Antihypertensive medication use</b>	4357 (29.29)	31 (29.52)	143 (22.20)	4531 (29)	< <b>0.001</b>
<b>DM</b>	2690 (18.09)	40 (38.10)	165 (25.62)	2895 (18.53)	< <b>0.001</b>
<b>Use of antidiabetic drugs</b>	1210 (8.14)	10 (9.52)	35 (5.43)	1255 (8.03)	<b>0.040</b> 5
<b>Poor management</b>	7933 (53.36)	58 (55.24)	281 (43.97)	8272 (52.99)	< <b>0.001</b>
<b>Waist/hip ratio – median (IQR)</b>	0.90 (0.83,0.96)	0.89 (0.84,0.94)	0.90 (0.84,0.96)	0.90 (0.83,0.96)	<b>0.117</b> 8
<b>BMI – median (IQR)</b>	26.49 (23.84,29.68)	27.68 (24.09,30.58)	24.43 (21.92,27.51)	26.41 (23.75,29.61)	< <b>0.001</b>

<b>hs-CRP (mg/dL) – median(IQR)</b>	1.45 (0.72,3.28)	0.31 (0.20,0.60)	0.29 (0.17,0.65)	1.37 (0.66,3.16)	< <b>0.001</b>
<b>CKD-Epi – median (IQR)</b>	88.41 (76.24,101.27)	99.10 (81.82,108.86)	106.78 (92.57,120.91)	89.04 (76.68,102.45)	< <b>0.001</b>
<b>SBP – median (IQR)</b>	124 (114,136)	127 (118,141)	124 (115.75,134)	124 (114,136)	<b>0.079</b> 7
<b>DBP – median (IQR)</b>	76 (69,83)	78 (71,84)	75 (70,83)	76 (69,83)	<b>0.089</b> 6
<b>cf-PWV (m/s)– median (IQR)</b>	9 (8.10,10.20)	8.70 (7.90,10.20)	8.48 (7.66,9.40)	9 (8.10,10.20)	< <b>0.001</b>

<sup>a</sup> Columns provide numbers (%) and interquartile range (IQR) where applicable

<sup>b</sup> Kruskal-Wallis and Chi-Square tests

Abbreviations: IQR – interquartile range; AMI – acute myocardial infarction; CVD – cardiovascular disease; BMI – body mass index; DM – diabetes mellitus; HDL – high density lipoprotein; LDL – low density lipoprotein; hs-CRP high sensitivity C-reactive protein; CKD-Epi – Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation; SBP – systolic blood pressure; DBP – diastolic blood pressure; cf-PWV – carotid-femoral pulse wave velocity

Table 2 – Comparison of cf-PWV (m/s) between HIV+ and ELSA-Brasil groups

<b>Univariable Models</b>		<b>Unweighted</b>		<b>Weighted*</b>		
<b>Variable</b>	Estimate	95%CI	p-value	Estimate	95%CI	p-value
<b>Group: HIV</b>	-0.68	-0.82;-0.53	<0.001	-0.04	-0.24; 0.16	<0.668
<b>Multiple Models</b>		<b>Unweighted</b>		<b>Weighted*</b>		
<b>Variable</b>	Estimate	95%CI	p-value	Estimate	95%CI	p-value
<b>Group: HIV</b>	-0.14	-0.26;-0.02	0.02628	-0.05	-0.23;0.12	0.52128
<b>Age (Years)</b>	0.06	0.06;0.07	<0.001	0.07	0.06;0.08	<0.001
<b>Sex: Female</b>	-0.13	-0.19;-0.06	<0.001	-	-	-
<b>Income (R\$) x10<sup>4</sup></b>	-0.05	-0.22;0.11	0.5308	-0.89	-1.71;-0.07	0.0324
<b>Schooling: &gt;9 years</b>	-0.09	-0.16;-0.02	0.0148	-	-	-
<b>Smoking: Former</b>	-0.08	-0.13;-0.02	0.003	-	-	-
<b>Smoking: Current</b>	-0.01	-0.08;0.06	0.746	-	-	-
<b>Family history of CVD</b>	-0.17	-0.27;-0.07	0.001	-	-	-
<b>Hypertension</b>	0.31	0.21;0.42	<0.001	-	-	-
<b>Antihypertensive medication use</b>	-0.27	-0.38;-0.17	<0.001	-	-	-

<b>DM</b>	0.30	0.21;0.40	<0.001	-	-	-
<b>Use of antidiabetic drugs</b>	0.37	0.25;0.49	<0.001	-	-	-
<b>Dyslipidemia</b>	0.14	0.03;0.26	0.016	-	-	-
<b>Use of lipid-lowering drugs</b>	-0.14	-0.27,-0.01	0.033	-	-	-
<b>Poor management</b>	-0.15	-0.26;-0.04	0,009			
<b>Waist/hip ratio <sup>a</sup></b>	0.10	0.07;0.14	<0.001	-	-	-
<b>Serum creatinine</b>	0.25	0.16;0.34	0.013	-	-	-
<b>LDL (mg/dL) x10<sup>2</sup></b>	-0.06	-0.15;0.04	0.233	-	-	-
<b>Triglycerides x10<sup>2</sup> (mg/dL)</b>	0.03	0.01; 0.05	0.010	0.24	0.15;0.33	<0.001
<b>hs-CRP (mg/dL)</b>	0.01	0.01;0.02	<0.001	-	-	-
<b>SBP</b>	0.03	0.03;0.04	<0.001	-	-	-
<b>DBP</b>	0.01	0.01;0.02	<0.001	-	-	-

Abbreviations: CVD – cardiovascular disease; DM – diabetes mellitus; LDL – low density lipoprotein; hs-CRP high sensitivity C-reactive protein; SBP – systolic blood pressure; DBP – diastolic blood pressure.

<sup>a</sup> Result expressed per a one standard deviation change

Table 3 - Final model for cf-PWV (m/s) on HIV+ and HIV- participants

<b>Univariable Models</b>	<b>Unweighted</b>			<b>Weighted*</b>		
<b>Variable</b>	<b>Estimate</b>	<b>95%IC</b>	<b>p-value</b>	<b>Estimate</b>	<b>95%IC</b>	<b>p-value</b>
<b>Group: HIV</b>	-0.37	-0.67;-0.07	0.016	0,03	-0.30;0.35	0,8743
<b>Multiple Models</b>	<b>Unweighted</b>			<b>Weighted*</b>		
<b>Variable</b>	<b>Estimate</b>	<b>95%IC</b>	<b>p-value</b>	<b>Estimate</b>	<b>95%IC</b>	<b>p-value</b>
<b>Group: HIV +</b>	-0.06	-0.28;-0.17	0.6724	0.10	-0.10;0,31	0.3199
<b>Age (Years)</b>	0.05	0.04;0.06	<0.001	0.05	0.04;0.06	<0.001
<b>Sex:Female</b>	0.265	0.08;0.45	0,0053	0.29	0.10;0.48	0.0030
<b>Family history of sudden death</b>	-0.24	-0.45;-0.03	0.0231	-0.27	-0.46;-0,09	0.0033
<b>Hypertension</b>	0.46	0.16;0.76	0.0028	0.59	0.24;0.95	0.0010
<b>Antihypertensive medication use</b>	-0.41	-0.72;-0.10	0.0097	-0.62	-0.99;-0.26	0.0008
<b>Dyslipidemia</b>	-0.16	-0.37;0.06	0.1538	-0.1629	-0.38;0.07	0.1737
<b>Waist/hip ratio<sup>a</sup></b>	0.16	0.07;0.26	<0.001	0.17	0.07;0.27	0.0009
<b>Income (R\$) x 10<sup>3</sup></b>	0,06	-0.02;0.14	0.1721	0.0566	-0.02;0.14	0.1743
<b>LDL x10<sup>2</sup>(mg/dL)</b>	0.20	-0.02;0.56	0.0704	0.24	-0.08;0.56	0.1413
<b>Triglycerides (mg/dL) x10<sup>3</sup></b>	0.86	-0.16;1.90	0.0980	1.19	0.10;2.27	0.0318

<b>Serum creatinine (mg/dl)</b>	0.08	-0.24;0.40	0.6251	0.08	-0.25;0.40	0.6422
<b>SBP</b>	0.02	0.01;0.03	<0.001	0.02	0.01;0.03	<0.001
<b>DBP</b>	0.02	0.01;0.04	<0.001	0,03	0.01;0.04	<0.001

Abbreviations: LDL – low-density lipoprotein; SBP – systolic blood pressure; DBP – diastolic blood pressure.

<sup>a</sup>Results are expressed per a one standard deviation change.



Table 4- Characteristics of HIV+ participants by terciles of cf-PW

	<i>[5.49,7.95]</i>	<i>(7.95,9]</i>	<i>(9,15.4]</i>	<i>Total</i>	<i>p-value</i>
<b>Total</b>	215	216	212	644	
<b>Sex:Female</b>	91 (42.33)	84 (38.89)	96 (45.28)	271 (42.15)	0.4069
<b>Age in years - median(IQR)</b>	36.31 (29.81,43.41)	43.25 (38.34,49.51)	49.62 (44.66,56.73)	43.60 (36.01,50.79)	< 0.001
<b>Schooling: &lt;9 years</b>	96 (44.65)	102 (47.22)	110 (51.89)	308 (47.90)	0.3167
<b>Race</b>					0.1859
<b>Black</b>	42 (19.53)	57 (26.39)	48 (22.64)	147 (22.86)	
<b>Brown</b>	87 (40.47)	85 (39.35)	86 (40.57)	258 (40.12)	
<b>White</b>	71 (33.02)	67 (31.02)	73 (34.43)	211 (32.81)	
<b>Others</b>	15 (6.98)	7 (3.24)	5 (2.36)	27 (4.20)	
<b>Smoking</b>					0.005
<b>Never</b>	121 (56.28)	112 (51.85)	87 (41.04)	320 (49.77)	
<b>Former</b>	45 (20.93)	51 (23.61)	75 (35.38)	171 (26.59)	
<b>Current</b>	49 (22.79)	53 (24.54)	50 (23.58)	152 (23.64)	
<b>Pack.years (10+)</b>	35 (16.28)	61 (28.37)	78 (36.79)	174 (27.10)	< 0.001
<b>Income (R\$) - median(IQR)</b>	414.50 (207.25,102)	414.50 (207.25,103)	414.50 (248.70,1036.2)	414.50 (207.25,1036.25)	0.3811

	1.45)	6.25)	5)	)	
<b>Family History of Sudden Death</b>	34 (15.81)	45 (20.83)	41 (19.34)	120 (18.66)	0.3899
<b>Family History of AMI or Stroke</b>	43 (20)	65 (30.09)	67 (31.60)	175 (27.22)	0.0135
<b>History of CVD</b>	13 (6.05)	13 (6.02)	23 (10.85)	49 (7.62)	0.0962
<b>Total cholesterol (mg/dL) - median(IQR)</b>	166 (145.50,197.50)	183.50 (157.75,210.25)	192.50 (166,224.50)	182 (155,211)	< 0.001
<b>HDL (mg/dL) - median(IQR)</b>	42 (35,49)	41 (34,51)	44 (35.50,53.50)	42 (35,51.75)	0.1201
<b>LDL (mg/dL) - median(IQR)</b>	100 (85,124)	107 (89,133)	110.50 (92.25,140.75)	106 (87,133)	< 0.001
<b>Triglycerides (mg/dL) - median(IQR)</b>	107 (73.50,143)	120 (82.75,185.25)	141 (104.75,201)	120 (85,185)	< 0.001
<b>CMV: IgG positive</b>	209 (99.52)	212 (99.53)	205 (99.03)	626 (99.37)	0.7002

<b>Dyslipidemia</b>	54 (25.71)	84 (39.62)	96 (46.15)	234 (37.14)	< 0.001
<b>Use of lipid-lowering drugs</b>	13 (6.05)	31 (14.35)	44 (20.75)	88 (13.69)	< 0.001
<b>Hypertension</b>	29 (13.49)	64 (29.63)	107 (50.47)	200 (31.10)	< 0.001
<b>Antihypertensive medication use</b>	26 (12.09)	43 (19.91)	73 (34.43)	142 (22.08)	< 0.001
<b>DM</b>	33 (15.35)	55 (25.46)	77 (36.32)	165 (25.66)	< 0.001
<b>Use of antidiabetic drugs</b>	3 (1.40)	8 (3.70)	24 (11.32)	35 (5.44)	< 0.001
<b>Poor management</b>	68 (31.92)	99 (46.26)	113 (53.55)	280 (43.89)	< 0.001
<b>Waist/hip ratio – median (IQR)</b>	0.87 (0.82,0.93)	0.90 (0.85,0.96)	0.94 (0.88,1.01)	0.90 (0.84,0.96)	< 0.001
<b>BMI – median (IQR)</b>	24.10 (3.92)	25.18 (4.69)	26.23 (5.28)	25.18 (4.74)	< 0.001
<b>hs-CRP (mg/dL) – median(IQR)</b>	0.26 (0.15,0.48)	0.27 (0.18,0.61)	0.36 (0.18,0.81)	0.29 (0.17,0.65)	0.0128
<b>CKD-Epi –</b>	109.69	107.85	103.35	106.78	< 0.001

<b>median(IQR)</b>	(96.25,130.50)	(92.55,119.50)	(89.18,114.38)	(92.57,120.91)	
<b>SBP</b>	118 (111,126.50)	122.50 (115,132)	131.50 (124,145)	124 (115.75,134)	< 0.001
<b>DBP</b>	71 (66,76)	75 (71,81)	82 (76,88)	75 (70,83)	< 0.001
<b>ART use: Yes</b>	183 (85.12)	188 (87.04)	198 (93.84)	569 (88.63)	0.0119
<b>PI-containing regimen</b>	94 (43.72)	112 (51.85)	130 (61.32)	336 (52.26)	0.0013
<b>NNRTI-containing regimen</b>	146 (67.91)	133 (61.57)	139 (65.57)	418 (65.01)	0.3785
<b>Cumulative Viral Load—median(IQR)</b>	12.44 (6.57,27.11)	14.09 (5.8,29.7)	18.77 (10.7,31.78)	15.07 (6.96,29.73)	0.0012
<b>Current CD4 counts (cells/mL) — median(IQR)</b>	514(368.25, 678.25)	539.50 (334.50,741.75)	595 (405.50,820)	579.86 (370,740)	< 0.001

<b>Nadir CD4 counts (cells/mL) — median(IQR)</b>	234.50 (122,319.75)	226 (76.50,335)	184 (87,296)	214 (95.25,315.75)	0.0334
<b>Undetectable Viral Load: Yes</b>	137 (64.62)	146 (67.91)	169 (80.86)	452 (71.07)	< 0.001
<b>Time on cART (years)— median (IQR)</b>	4.29 (1.82,10.19)	5.33 (2.17,10.71)	6.45 (3.45,11.57)	4.91 (2.28,11.02)	0.0063
<b>Time on PI (years)— median (IQR)</b>	4.91 (1.82,12.06)	6.12 (2.42,10.61)	6.16 (1.97,11.75)	5.83 (2,11.50)	0.8346
<b>Time on NNRTI (years)— median (IQR)</b>	2.65 (0.75,4.46)	2.92 (1.32,5.16)	3.3 (1.57,5.59)	2.86 (1.21,4.76)	0.0323

<sup>a</sup> Columns provide numbers (%) and interquartile range (IQR) where applicable

Abbreviations: IQR—interquartile range; AMI—acute myocardial infarction; CVD—cardiovascular disease; BMI—body mass index; DM—diabetes mellitus; HDL—high density lipoprotein; LDL—low density lipoprotein; hs-CRP high sensitivity C-reactive protein; CMV—cytomegalovirus; SBP – systolic blood pressure; DBP – diastolic blood pressure; cART – combined antiretroviral therapy; PI—protease inhibitors; NNRTI— *Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors*



Table 5- Final linear model for clinical and HIV-related predictors of cf-PWV.

<i>Variable</i>	<i>coefficient</i>	<i>95%IC</i>	<i>p-value</i>
<b>Sex: Male</b>	-0,23	-0,45; -0,02	0.04
<b>Age in years</b>	0.05	0.04;0.06	<0.001
<b>Race <sup>a</sup></b>			
<b>White</b>	-0.11	-0.37; 0.11	0.2980
<b>Brown</b>	-0.03	-0.26; 0.19	0.7576
<b>Others</b>	-0.31	-0.80;0.13	0.1597
<b>Family History of Sudden Death</b>	-0.30	-0.54;-0.06	0.0137
<b>Family History of AMI or Stroke</b>	0.16	-0.04;0.37	0.1145
<b>Hypertension</b>	0.51	0.16;0.84	0.0036
<b>Antihypertensive medication use</b>	-0.55	-0.90;-0.19	0.0023
<b>CMV: IgG positive</b>	0.24	-0.73;1.36	0.5590
<b>Dyslipidemia</b>	-0.22	-0.46;0.03	0.0871

<b>Waist/hip ratio<sup>b</sup></b>	0.18	0.08;0.29	<0.001
<b>Income (R\$) x10<sup>3</sup></b>	0.07	-0.01;0.15	0.0935
<b>Serum creatinine x10</b>	0.07	-0.32;0.34	0.9552
<b>LDL (mg/dL) x10<sup>2</sup></b>	0.19	-0.13;0.52	0.2446
<b>Triglycerides (mg/dL) x 10<sup>2</sup></b>	0.10	0.02;2.24	0.0457
<b>Cumulative Viral Load x 10<sup>2</sup></b>	-0.30	-0.96;0.36	0.3769
<b>Current CD4 counts x10<sup>3</sup>(cells/mL)*</b>	0.33	-0.05;0.67	0.0539
<b>Nadir CD4 counts x10<sup>3</sup> (cells/mL)*</b>	0.23	-0.91;0.44	0.4940
<b>Time on cARTx10 (years)*</b>	0.09	-0.03;0.01	0.4344
<b>No cART use</b>	-0.08	-0.42;0.24	0.6117
<b>PI-containing</b>	0.17	-0.03;0.32	0.1084



---

**regimen**

---

<b>SBP</b>	0.01	0.01;0.03	<0.001
------------	------	-----------	--------

---

<b>DBP</b>	0.02	0.01;0.04	<0.001
------------	------	-----------	--------

---

Abbreviations: AMI—acute myocardial infarction; LDL—low density lipoprotein; CMV—cytomegalovirus; SBP – systolic blood pressure; DBP – diastolic blood pressure; cART – combined antiretroviral therapy; PI—protease inhibitors

<sup>a</sup>Reference category = Black

<sup>b</sup>Result expressed per a one standard deviation change.

\* Included in the final model only for illustration

### 5.3 Resultados do objetivo específico #3 sob a forma de artigo.

#### **Factors associated with incident cardiovascular events and risk assessment in a cohort of HIV-infected participants in Rio de Janeiro**

R. C. Moreira<sup>1,2</sup>, J. Muller<sup>3</sup>, S.W. Cardoso<sup>2</sup>, R.I. Moreira<sup>2</sup>, S. Ribeiro<sup>2</sup>, E. Nunes<sup>2</sup>, R. Griep<sup>4</sup>, Maria J.M. Fonseca<sup>5</sup>, V.G. Veloso<sup>2</sup>, B. Grinsztejn<sup>2</sup>, D. Chor<sup>5</sup>, A.G. Pacheco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Computação Científica, FIOCRUZ; <sup>2</sup>Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, FIOCRUZ; <sup>3</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro - Rio de Janeiro, Brazil; <sup>4</sup>Laboratory of Health and Environment Education, FIOCRUZ; <sup>5</sup>Departamento de Epidemiologia e Métodos Quantitativos em Saúde, FIOCRUZ.

**Background:** Cardiovascular events (CVEs) have emerged as an important cause of morbimortality in people living with HIV/AIDS (PLHA). We investigated factors associated with incident CVE in a cohort of PLWHA in Brazil and compared the observed incidence with the predicted risk by three different equations.

**Methods:** Among the 649 active participants of the INI-ELSA cohort, we analyzed data of 621 individuals who were free of CVE at baseline examinations, between jan-2011 and jan-2012, and followed until dec-2016 for development of CVE. We used Cox regression models to study factors associated with CVE and to assess the equation's performance we compared the observed incidence with the overall 5-year predicted risks.

**Results:**

Over a median follow-up of 4.44-years (interquartile range [IQR] 4.28-4.66), there were 11 CVE. Overall, 57.23% were male, median age was 42.99 (35.67-50.01), most were on cART (88.39%). Participants who had CVE were older, had higher proportion of current and heavy smokers (>10packs/years) and higher levels of blood pressure. The observed CVE rate was 1.80% (0.7-2.80%) whereas their overall cardiovascular disease (CVD) risk differed depending on which score was used: 0.88% (0.41-1.95%), 1.13% (0.34-2.62%) and 1.5% (0.57-3.56%), according to Framingham, Atherosclerotic Cardiovascular Disease (ASCVD) and The Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs equation (DAD), respectively. In the multivariable Cox analysis current smoking (hazard ratio [HR] = 14.0, 95%CI= 1.36; 144.22, p=0.02), family history of CVE (HR=7.10, 95%CI= 1.09; 46.20,p=0.04), LDL cholesterol (HR= 1.02, 95%CI= 1; 1.04, p=0.04) and undetectable viral load (HR=0.13, 95%CI =0.03; 0.61, p<0.01) were independent predictors of CVE.

**Conclusion:** Both traditional and HIV-related factors were associated with incident CVE. Risk scores were inconsistent in classifying patients who had CVE as high risk, indicating that validation studies are required to improve risk assessment of PLHA in Brazil.

## **Introduction**

Although in the last decades HIV infection and its related complications remained as the major cause of death in people living with HIV/AIDS (PLHA), mounting data suggest that cardiovascular diseases (CVDs) have emerged as important causes of morbimortality in PLHA, after the introduction of combined antiretroviral therapy (cART).

The etiology seems to be multifactorial; the main components of traditional risk factors for the development of CVD are increasingly present in PLHA, as recent epidemiologic studies showed higher rates of diabetes, smoking and hypertension in PLHA when compared to the general population <sup>1-3</sup>. In addition, some ART regimens have been implicated in the induction of abnormal central fat accumulation, which in turn, promotes dyslipidemia and insulin resistance <sup>4,5</sup>. Nevertheless, most cART regimens seem to attenuate the immune activation of atherosclerosis, but do not eliminate it, even in patients in whom viremia is suppressed <sup>6</sup>. Consequently, HIV infection has been associated with 50% increase in myocardial infarction risk, even after controlling for well-known cardiovascular (CV) risk factors <sup>7</sup>. Although traditional risk factors do not fully explain the increased CV risk, whether HIV infection is itself a risk factor for CVD by promoting immune activation and inflammation is not totally clear yet.

Notwithstanding, it is of uppermost importance for clinicians to correctly recognize high-risk patients in order to initiate preventive interventions to control modifiable risk factors. To address this purpose several risk functions have been derived from epidemiologic prospective studies in the general population. The most widely used in clinical practice, the Framingham risk score (FRS), was the first to demonstrate the ability to predict sex-specific 10-year CV risk using a set of variables obtained from a Caucasian population, using a mathematical model <sup>8</sup>. Since

then it has been further validated for use in different populations, provided that adjustments are made for demographic variation and the underlying CVD rates <sup>9,10</sup>. Recently, FRS has been adopted for PLHA, generating criticism and debate in the literature about this approach, since PLHA hold unique characteristics and there are quite a few studies pointing out that FRS can be under or overestimating CV risk in this population <sup>11-13</sup>. Moreover, the Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (DAD) risk prediction equation was developed specifically for PLHA, taking into account traditional and HIV-related CVD risk factors, and it was further updated to include a marker of immune function, even though its external validity is limited <sup>14</sup>. Lastly, the American College of Cardiology/American Heart Association (ACC/AHA) presented the Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk Score (ASVCD) to guide statin initiation, also requiring further validation in external cohorts <sup>15</sup>.

Accordingly, we previously reported that virologic suppression and preservation of CD4 counts were as important as traditional CVD risk factor for determining an incident CVE among hospitalized PLHA of our cohort <sup>16</sup> but there is scarce information in the literature about the incidence of CVE in PLHA who are attended in outpatient facilities in Brazil and the contribution of risk factors linked or not to HIV infection promoting these changes. This knowledge could improve clinical practice considering its contribution to a better approach driving preventive interventions for CV risk reduction in PLHA. Therefore, we propose to investigate factors associated with incident CVE in PLHA in Brazil and secondarily to compare the predicted 5-year risk calculated by FRS, DAD and ASVCD with the observed CVE in our cohort.

## **Methods**

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) is a national reference center for infectious diseases, research, and training related to HIV/AIDS since 1986. An observational clinical database, available in electronic and paper records, is maintained, with PLHA receiving primary, specialty, and tertiary HIV care at its facilities, which constitutes the INI cohort. The active participants of the INI cohort who were between the ages of 25 and 75 in 2011 (n=2,372) were invited to the INI-ELSA study, which consisted of a representative sample of 649 participants.<sup>17</sup> Among those, 621 free of CVD at baseline were included in this study and prospectively followed until Dec 2016 for the occurrence of CVE.

### **Data collection**

Baseline examination consisted of the same components of the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil) which aims to contribute relevant information with respect to the development and progression of chronic diseases, particularly cardiovascular diseases and diabetes<sup>18-20</sup>. During The accrual period, between Jan 2011 and Dec 2011, participants underwent the ELSA-Brasil protocol, which included detailed questionnaires' interviews, covering sociodemographic characteristics including age, sex, race, family income, family history of specific diseases such as cardiovascular disease, diabetes and sudden death, current and former smoking, use of prescription and over-the-counter medications used in the last month and comorbidity characteristics. In addition, clinical and anthropometric examinations, oral glucose tolerance test, overnight urine and fasting venous blood samples were collected for high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) measurement and a complete laboratory evaluation. HIV cohort-specific information including use of cART, use of protease inhibitor (PI), Non-nucleoside

reverse transcriptase inhibitors (NNRTI) or Nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTI)-containing regimens and the time in years on each regimen, current CD4 counts, viral loads, cytomegalovirus (CMV), nadir CD4 counts and previous HIV viral load measurement were all obtained from the medical charts in the cohort's database.

### **Follow-up visits**

HIV viral loads and CD4 + cell counts are measured every 4-6 months as part of regular outpatient care. The CD4 lymphocyte count is performed by flow cytometry (Becton-Dickinson, USA) and the quantification of HIV viral load is performed by the Real time PCR methodology, with a minimum detection limit of 40 copies / ml. These tests are performed 2-3 times / year.

Clinical events, whether or not associated with HIV / AIDS (cardiovascular, renal, hepatic, neoplastic comorbidities, HIV / AIDS-related signs and symptoms), antiretroviral treatment regimens and adverse events associated with those regimens, CD4 + cell count and HIV viral load are systematically collected retrospectively from medical records. This work is carried out by a team of specialized and trained technicians who work under the supervision of an infectologist.

For the purposes of this study a CVE was defined as a composite of incident acute myocardial infarction (AMI), angina, stroke, heart failure or peripheral artery disease (PAD). In order to improve information quality, a systematic validation of patients who had CVEs recorded in their chart was performed by a cardiologist according to current guidelines<sup>21-26</sup>.

### **Covariables definition**

Variables were defined or calculated as follows. Race was categorized into blacks, brown, whites and others. Diabetes mellitus (DM) was defined as having glycated hemoglobin > 6.5%, fasting glucose > 126 mg/dL, oral glucose tolerance test levels > 200 mg/dL or current use of a hypoglycemic drug. Resting blood pressure was measured three times in the non-dominant arm in the sitting position and hypertension was ascertained if the mean of the last 2 measurements showed systolic blood pressure  $\geq 140$  mmHg or diastolic blood pressure  $\geq 90$  mmHg or if in use of anti-hypertensive drugs. Dyslipidemia was defined as low-density lipoprotein (LDL) levels  $\geq 130$  mg/dL or use of lipid-lowering drugs. Cumulative smoking was calculated as pack-years, by multiplying the number of packs smoked per day by the number of years of smoking. Family history of sudden death and family history of acute myocardial infarction (AMI) or stroke were defined as the informed occurrence of any episode of those conditions among parents or brothers younger than 65 years of age. Body mass index (BMI) was calculated as the ratio of measured weight in kilograms and squared height in meters. Cumulative viral load (VL; viremia copy-years) was defined as the area under the curve for two consecutive viral load measurements over time, in years<sup>27</sup>. Estimated Glomerular filtration rate (eGFR) was calculated with the CKD-Epi equation<sup>28</sup>.

The predicted 5 year CVD risk of each participant was calculated using three CVD risk equations: 1) the FRS risk equation calculated as combination of age, sex, SBP, antihypertensive therapy, serum total cholesterol (TC) and HDL-cholesterol (HDL-c) values, current smoking status and diabetes. 2) The DAD CVD risk estimates by combining information for age; sex; systolic blood pressure; serum TC and HDL-c, diabetes; smoking status; family history of CVD; current use of abacavir, indinavir, or lopinavir; and the number of years on indinavir or



Lopinavir. 3) The ASCVD risk was estimated using age, diabetes, sex, race, smoking status, SBP, treatment for hypertension, TC and HDL-c. Then, for comparison proposes the 5-year risk of coronary heart disease was arbitrarily categorized as low (<1%), moderate (1 to 5%) and high (>5%) for each equation.

### **Statistical analysis**

Descriptive comparisons of general characteristics between groups as well as the predicted and observed CVE were carried out with Mann-Whitney test for continuous and chi-squared or Fisher exact tests for categorical variables. Data were expressed as median [interquartile range] (IQR) or frequency (%) where applicable. To study factors associated with CVE in PLHA, the best multivariable model among variable candidates was chosen for Cox proportional hazards regression using an exhaustive procedure implemented by a genetic algorithm and ranked by the Akaike information criterion. The procedure was also replicated 20 times and the overall best model was chosen. To take into account the time varying cART regimens, the data was expanded from one record-per-patient to one record-per-interval between each time the regimen has changed. Hence, we employed a Cox model with time update cART.

To assess the equation's performance, we compared the observed number of CVE with the absolute 5-year risk calculated by FRS, DAD and ASVCD. The observed number was adjusted for follow up time using the Kaplan-Meier (KM) estimator based on a tabulation of the number of PLHA at risk and number of CVE at each unique time. P-values less than 5% considered significant for comparison of differences between groups. All analyses were performed in the R environment version 3.2.2<sup>29</sup>.

## Results

We analyzed data from 621 participants. Over a median follow-up of 4.44-years (interquartile range [IQR] 4.28-4.66), There were 11 CVE: 3 (27.27%) acute myocardial infarctions, 3 (27.27%) strokes, 4 (36.36%) unstable anginas and 1 (9.09%) peripheral artery disease. The event rate was 4.63/1000 person-years (2732 person-years of follow-up), yielding a cumulative five-year survival rate of 98.2% (95%CI=95.8-99.4%). Overall, 57.23 % were male, predominantly brown (40.74%), median age was 42.99 (35.66-50.). Among traditional CV risk factors, smoking was found in 22.71%, diabetes in 24.8%, dyslipidemia in 36.23% and hypertension in 29.31%. Most of them were under cART (88.39%) for a median time of 4.1 years (0.62,9.98) with undetectable viral load (71.01%), high levels of current CD4 cell counts (536 [371,731]) and the most common used regimen was NNRTI (64.9%). The main clinical and laboratory characteristics of the study participants with or without CVE are shown in Table 1.

In unadjusted analysis, participants in whom CVE occurred were older (median age 49.13 [46.63,53.89] vs. 42.88 [35.61,49.92],  $p=0.04$ ), current and heavy smokers (>10packs/years), had higher levels of LDL cholesterol and higher levels of systolic and diastolic blood pressure. Regarding HIV-related characteristics, having a current lower CD4 cell count or Nadir and undetectable viral load were not associated with CVE. cART regimens and HIV-related characteristics of PLHA by incidence of CVE are depicted in Table 2.

Multivariate Cox regression analysis showed that former (HR = 13.21, 95% CI= 1.30; 134.50) and current smokers (HR: 14.0, 95% CI= 1.36; 144.22) were at a higher risk of CVE than those who never smoked and we observed a gradient of risk. Family history of CVD (HR: 7.10,

95% CI=1.09; 46.20) and higher levels of LDL cholesterol (HR: 1.02, 95%CI = 1; 1.04) were also predictive of a CVE whereas undetectable viral load (HR: 0.1, 95% CI= 0.02; 0.42) was a protective factor (Table 4).

### **Estimated CVD risk equations**

The estimated 5-year CVD risk of PLHA ranged from 0.55 to 3.51%, with a median of 1.44% based on the DAD equation, from 0.41 to 1.95% with a median of 0.88% based on the FRS and from 0.34 to 2.62% with a median of 1.13% based on the ASCVD calculator, whereas the observed 5-year KM adjusted CVE was 1.80% (CI= 0.7-2.80%). Overall, the categorized 5-year risk showed that DAD, FRS and ASCVD equations estimated 16.14%, 4.69% and 12.78% of the study population to be at high risk, respectively. Among those who had a CVE, the DAD equation had higher 5 year median values (4.28 [3.08,5.33]), when compared to FRS (2.52 [1.72,4.13]) or to ASCVD calculator (2.92 [1.82,7.06]) and the former categorized a higher proportion as high risk (36.36%) than DAD (27.27%) or FRS (18.18%). The overall absolute 5-year CVE risk estimates and the risk categories of DAD, FRS and ASVCD equations in PLHA are exhibited in Table 3.

### **Discussion**

In this study we demonstrated that traditional CV risk factors were independent predictors of CVE in PLHA and viral suppression was cardioprotective. Moreover, the DAD equation seems to better predict CVE in a Brazilian cohort of PLHA.

Our main findings suggest that traditional CV risk factors are still major independent predictors of CVE occurrence in PLHA likewise in the general population. In agreement, De Socio et al recently found age, smoking and diabetes as predictors of CVE in PLHA <sup>30</sup>. For Quiros et al; in a population-based study of PLHA in northern Italy, age higher than 45 years, male gender, diabetes, and total cholesterol were significantly associated with CVE <sup>31</sup>.

Furthermore, we detected a strong association between smoking and CVE, which, coupled with epidemiologic studies that show rates of smoking two to three fold higher among PLHA than age-matched controls <sup>32,33</sup>, reinforces the importance of strategies to stop smoking and its gains in primary prevention. Herein, It is fundamental the implementation of regular monitoring of comorbidities related to CVD as well as assessment of interventions and lifestyle modification following the current guidelines as part of the HIV care continuum, along with generally accepted strategies of adherence on cART and achievement of viral suppression, to further change the CV risk.

The HIV-induced proinflammatory state may contribute to the overall increased CVE in PLHA, particularly in those not on ART <sup>34</sup>. In this circumstance our results showed that viral suppression was cardioprotective and in the unadjusted analysis we observed that parameters of immune activation and viral activity such as current CD4 cell count and undetectable viral load were in optimal conditions as consequence of cART use. We suppose that the high proportion of cART use (88.39%) in our cohort had a relevant role inducing control of the potential pathogenic mechanism of chronic inflammation and vascular damage, promoting an indirect effect in CVE rates reduction. Corroborating with this inference, data from the cART arms from SMART and ESPRIT randomized clinical trials, which included patients with well-controlled viral loads and

high CD4 counts, showed mortality rates comparable to the general population, in these studies the overall commonest cause of death was CVD<sup>35</sup>. Collectively these data suggest the net benefit of continuous use of cART having the virologic control as underlying goal.

In contrast with the good immunologic function, we found increased prevalences of traditional CV risk factors in our cohort, including dyslipidemia (36.23%), diabetes (24.92%) and hypertension (29.26%). As opposed to the DAD study, an European cohort composed predominantly by men, smaller prevalences were reported for DM (3.0%) and hypertension (14%), although they observed similar prevalence of dyslipidemia (42%) and a higher proportion of current smokers (53.3% vs. 22.71%)<sup>14</sup>. In our cohort, DM was carefully defined based on levels of glycated hemoglobin and glucose tolerance test or current use of a hypoglycemic drug.

Although we could not fully understand these different prevalences for DM, it is possible that distinct ways in assessing DM status and thresholds for its treatment, may have led to the unlikely prevalences verified for this condition between the studies. As both DAD and INI cohort have similar ages, the higher proportion of PLHA under cART in our study for an extended period of time along with its metabolic toxicities could in part explain our increased proportion of traditional CV risk factors, such as DM when compared to DAD study<sup>36</sup>.

Moreover, when we consider the absolute 5-year risk calculated by the updated DAD equation in the original cohort and the calculated risk by DAD equation in our cohort there is a considerable difference on the predicted risks (2.49% vs. 1.44%), highlighting the baseline demographic imbalance between these populations.

In the secondary analysis we found an event rate of 4.63/1000 person-years (PY), yielding a cumulative five-year survival rate of 98.2%, slightly lower compared with epidemiologic

studies<sup>37,38</sup> Our lower rate most likely reflects among other factors, the overall control of comorbidities related to this condition in our population for instance, a combination of lipid-lowering, anti-hypertensive and anti-diabetic medications.

Regarding the performance of the absolute risk estimated by the three equations in our exploratory analysis, although all of them underestimated the observed risk, the DAD score performed better (1.44%) than FRS (0.88%) and ASVCD (1.13%) when we compare these point estimates with the observed 5-year CVE (1.80%). It is also important to notice that the three predicted risks are within the confidence interval width estimated for the population sample. We found discordant results in the literature when assessing CVD prediction in PLHA; for instance, Thompson et al. found that DAD and ASVCD underestimated the CV risk whereas FRS accurately predicted it<sup>39</sup>. In accordance, De Socio observed that CVE were well predicted by FRS<sup>30</sup>, whereas for Raggi, both ASVCD and FRS estimates for 10 years and DAD estimates for 5 years, have similar risks of CVE and the author concluded that all equations showed modest predictive ability<sup>38</sup>. More recently, H.M. Crane et al reported in a conference abstract that ASCVD had better discrimination than other 3 risk scores, including the DAD and FRS for myocardial infarction in PLHA<sup>40</sup>.

The reasons for these conflicting results could be partially explained by the use of surrogate endpoints to measure CVE and differences in relation to demographic characteristics and CVE definition or its ascertainment among the populations in these studies.

Our results suggest that FRS could be underestimating CVE risk in PLHA in Brazil, as the predicted 5-year absolute CVD risk was the lowest amongst the three equations that have been evaluated and models that take into account exposure to individual cART regimens and

immune activation could more accurately predict CVE occurrence. However, to better understand these inconsistencies, a formal validation of these models is necessary to determine whether one of these tools can be generalized among PLHA in Brazil.

The strengths of the study include a well-defined cohort along with a complete high-quality dataset of covariables and no losses of follow up, reducing the role of potential confounders in the association and increasing internal validity. Furthermore, we independently validated the CVE also improving the accuracy of the information about CVE obtained from our medical charts. The limitations include the small number of CVE decreasing the precision of the results. To the best of our knowledge, this is the first study to investigate the incidence and factors associated with CVE, assessing its risk by three different equations in a middle-income country.

In conclusion, traditional modifiable CV risk factors, including smoking and LDL-cholesterol are still major independent predictors of CVE in PLHA, and strategies towards controlling those risk factors along with smoking cessation are essential for primary prevention. Viral suppression was inversely associated with CVE, and continuous cART use should be reinforced in order to achieve viral suppression and consequently CVE reduction. The DAD equation seems to better predict CVE in PLHA than FRS and ASCVD; however, future studies should perform a formal validation of these tools in Brazil.

## References

1. De Wit S, Sabin CA, Weber R, et al. Incidence and risk factors for new-onset diabetes in HIV-infected patients: the Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (D:A:D) study. *Diabetes care*. 2008;31(6):1224-1229.
2. Galli L, Salpietro S, Pellicciotta G, et al. Risk of type 2 diabetes among HIV-infected and healthy subjects in Italy. *European journal of epidemiology*. 2012;27(8):657-665.
3. Klein D, Hurley LB, Quesenberry CP, Jr., Sidney S. Do protease inhibitors increase the risk for coronary heart disease in patients with HIV-1 infection? *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2002;30(5):471-477.
4. Riddler SA, Smit E, Cole SR, et al. Impact of HIV infection and HAART on serum lipids in men. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2003;289(22):2978-2982.
5. Behrens GM. Cardiovascular risk and body-fat abnormalities in HIV-infected adults. *The New England journal of medicine*. 2005;352(16):1721-1722; author reply 1721-1722.
6. Zanni MV, Schouten J, Grinspoon SK, Reiss P. Risk of coronary heart disease in patients with HIV infection. *Nat Rev Cardiol*. 2014;11(12):728-741.
7. Freiberg MS, Chang CC, Kuller LH, et al. HIV infection and the risk of acute myocardial infarction. *JAMA internal medicine*. 2013;173(8):614-622.
8. D'Agostino RB, Sr., Vasan RS, Pencina MJ, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008;117(6):743-753.
9. D'Agostino RB, Sr., Grundy S, Sullivan LM, Wilson P, Group CHDRP. Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores: results of a multiple ethnic groups investigation. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2001;286(2):180-187.
10. Marrugat J, D'Agostino R, Sullivan L, et al. An adaptation of the Framingham coronary heart disease risk function to European Mediterranean areas. *Journal of epidemiology and community health*. 2003;57(8):634-638.
11. Herrera S, Guelar A, Sorli L, et al. The Framingham function overestimates the risk of ischemic heart disease in HIV-infected patients from Barcelona. *HIV clinical trials*. 2016;17(4):131-139.
12. Pinto Neto L, Dias FR, Bressan FF, Santos CRO. Comparison of the ACC/AHA and Framingham algorithms to assess cardiovascular risk in HIV-infected patients. *The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*. 2017;21(6):577-580.



13. Chia YC, Lim HM, Ching SM. Validation of the pooled cohort risk score in an Asian population - a retrospective cohort study. *BMC cardiovascular disorders*. 2014;14:163.
14. Friis-Moller N, Ryom L, Smith C, et al. An updated prediction model of the global risk of cardiovascular disease in HIV-positive persons: The Data-collection on Adverse Effects of Anti-HIV Drugs (D:A:D) study. *European journal of preventive cardiology*. 2016;23(2):214-223.
15. Muntner P, Colantonio LD, Cushman M, et al. Validation of the atherosclerotic cardiovascular disease Pooled Cohort risk equations. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2014;311(14):1406-1415.
16. Diaz CM, Segura ER, Luz PM, et al. Traditional and HIV-specific risk factors for cardiovascular morbidity and mortality among HIV-infected adults in Brazil: a retrospective cohort study. *BMC infectious diseases*. 2016;16:376.
17. Grinsztejn B, Luz PM, Pacheco AG, et al. Changing mortality profile among HIV-infected patients in Rio de Janeiro, Brazil: shifting from AIDS to non-AIDS related conditions in the HAART era. *PloS one*. 2013;8(4):e59768.
18. Chor D, Alves MG, Giatti L, et al. [Questionnaire development in ELSA-Brasil: challenges of a multidimensional instrument]. *Revista de saude publica*. 2013;47 Suppl 2:27-36.
19. Lotufo PA. [Setting up the longitudinal study for adult health (ELSA-Brasil)]. *Revista de saude publica*. 2013;47 Suppl 2:3-9.
20. Aquino EM, Barreto SM, Bensenor IM, et al. Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil): objectives and design. *American journal of epidemiology*. 2012;175(4):315-324.
21. O'Gara PT, Kushner FG, Ascheim DD, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2013;127(4):e362-425.
22. Sociedade Brasileira de C. [Guidelines for Unstable Angina and Non-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction of the Brazilian Society of Cardiology (II Edition,2007)]. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2007;89(4):e89-131.
23. Cannon CP, Brindis RG, Chaitman BR, et al. 2013 ACCF/AHA key data elements and definitions for measuring the clinical management and outcomes of patients with acute coronary syndromes and coronary artery disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Clinical Data Standards (Writing Committee to Develop Acute Coronary Syndromes and Coronary Artery Disease Clinical Data Standards). *Critical pathways in cardiology*. 2013;12(2):65-105.

24. Lifson AR, Group IERCW, Bellosso WH, et al. Development of diagnostic criteria for serious non-AIDS events in HIV clinical trials. *HIV clinical trials*. 2010;11(4):205-219.
25. Radford MJ, Arnold JM, Bennett SJ, et al. ACC/AHA key data elements and definitions for measuring the clinical management and outcomes of patients with chronic heart failure: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Data Standards (Writing Committee to Develop Heart Failure Clinical Data Standards): developed in collaboration with the American College of Chest Physicians and the International Society for Heart and Lung Transplantation: endorsed by the Heart Failure Society of America. *Circulation*. 2005;112(12):1888-1916.
26. J. M de Faria; R.C. Moreira; S W. Cardoso; R.I. Moreira; S. Ribeiro; V. G. Veloso; B.Grinsztejn; A.G. Pacheco. Validação de eventos cardiovasculares em uma Coorte HIV positivo do Instituto

Evandro Chagas. *X congresso Brasileiro de Epidemiologia*. 2017.

27. Mugavero MJ, Napravnik S, Cole SR, et al. Viremia copy-years predicts mortality among treatment-naïve HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2011;53(9):927-935.
28. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Annals of internal medicine*. 2009;150(9):604-612.
29. Team RC. R: A Language and Environment for Statistical Computing. 2015; R Foundation for Statistical Computing. Available at: <https://http://www.R-project.org/>.
30. De Socio GV, Pucci G, Baldelli F, Schillaci G. Observed versus predicted cardiovascular events and all-cause death in HIV infection: a longitudinal cohort study. *BMC infectious diseases*. 2017;17(1):414.
31. Quiros-Roldan E, Raffetti E, Foca E, et al. Incidence of cardiovascular events in HIV-positive patients compared to general population over the last decade: a population-based study from 2000 to 2012. *AIDS care*. 2016;28(12):1551-1558.
32. Mdodo R, Frazier EL, Dube SR, et al. Cigarette smoking prevalence among adults with HIV compared with the general adult population in the United States: cross-sectional surveys. *Annals of internal medicine*. 2015;162(5):335-344.
33. Tesoriero JM, Gieryic SM, Carrascal A, Lavigne HE. Smoking among HIV positive New Yorkers: prevalence, frequency, and opportunities for cessation. *AIDS and behavior*. 2010;14(4):824-835.
34. J. A. O'Halloran CSS, P. WG Mallon. Dyslipidemia, Atherosclerosis and Cardiovascular Disease: An Increasingly Important Triad in an Aging Population Living With HIV. *Future virology*. 2013;8(10):1021-1034. .

35. Rodger AJ, Lodwick R, Schechter M, et al. Mortality in well controlled HIV in the continuous antiretroviral therapy arms of the SMART and ESPRIT trials compared with the general population. *Aids*. 2013;27(6):973-979.
36. Friis-Moller N, Sabin CA, Weber R, et al. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *The New England journal of medicine*. 2003;349(21):1993-2003.
37. Law MG, Friis-Moller N, El-Sadr WM, et al. The use of the Framingham equation to predict myocardial infarctions in HIV-infected patients: comparison with observed events in the D:A:D Study. *HIV medicine*. 2006;7(4):218-230.
38. Raggi P, De Francesco D, Manicardi M, et al. Prediction of hard cardiovascular events in HIV patients. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2016;71(12):3515-3518.
39. Thompson-Paul AM, Lichtenstein KA, Armon C, et al. Cardiovascular Disease Risk Prediction in the HIV Outpatient Study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2016;63(11):1508-1516.
40. Kitahata HMCERNJADDDSHRYMJFRMMSMM. Comparing Cardiovascular Disease Risk Scores for Use in HIV-Infected Individuals. Optimal cardiovascular disease risk score for HIV Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2016, 2016; Boston.

Table 1 –General characteristics of PLHA according to incidence of cardiovascular event.

<i>Groups</i>				
	<b>CVE-</b>	<b>CVE+</b>	<b>Total</b>	<b>p value<sup>b</sup></b>
<b>Total</b>	610	11	621	
<b>Sex: Male</b>	349 (57.21)	7 (58.33)	356 (57.23)	0.7659
<b>Age in years – median (IQR)</b>	42.88 (35.61,49.92)	49.13 (46.63,53.89)	42.99 (35.66,50)	0.0414
<b>Schooling: &lt;9 years</b>	291 (47.7)	5 (45.45)	296 (47.67)	0.99
<b>Race</b>				0.3014
<b>Black</b>	140 (22.95)	3 (27.27)	143 (23.03)	
<b>Brown</b>	246 (40.33)	7 (63.64)	253 (40.74)	
<b>White</b>	199 (32.62)	1 (9.09)	200 (32.21)	
<b>Others</b>	25 (4.1)	0 (0)	25 (4.03)	
<b>Smoking</b>				0.0071
<b>Never</b>	317 (51.97)	1 (9.09)	318 (51.21)	
<b>Former</b>	157 (25.74)	5 (45.45)	162 (26.09)	
<b>Current</b>	136 (22.3)	5 (45.45)	141 (22.71)	
<b>Pack.years (10+)</b>	153 (25.12)	8 (72.73)	161 (25.97)	0.0014

<b>Income (R\$) – median (IQR)</b>	414.5 (207.25,1036.25)	414.5 (181.34,1658)	414.5 (207.25,1036.25)	0.8786
<b>Family History of Sudden Death</b>	112 (18.36)	4 (36.36)	116 (18.68)	0.1313
<b>Family History of AMI or Stroke</b>	164 (26.89)	5 (41.67)	169 (27.17)	0.1807
<b>Total cholesterol (mg/dL) - median(IQR)</b>	182 (155,211)	203 (174,240.5)	182 (155,211)	0.0934
<b>HDL (mg/dL) - median(IQR)</b>	42 (35,51)	39 (32.5,47.5)	42 (35,51)	0.4704
<b>LDL (mg/dL) – median (IQR)</b>	106 (87,132.5)	130 (110.5,151)	106.5 (87,133)	0.0333
<b>Triglycerides (mg/dL) – median (IQR)</b>	120 (84,183)	171 (127,193.5)	120 (84.75,184)	0.1007
<b>Dyslipidemia</b>	215 (35.95)	6 (50)	221 (36.23)	0.3678
<b>Use of lipid-lowering drugs</b>	76 (12.46)	2 (16.67)	78 (12.54)	0.637
<b>Hypertension</b>	175 (28.69)	7 (63.64)	182 (29.31)	0.0181
<b>Antihypertensive</b>	123 (20.16)	4 (36.36)	127 (20.45)	0.2484

<b>medication use</b>				
<b>DM</b>	151 (24.75)	3 (27.27)	154 (24.8)	0.7385
<b>Use of antidiabetic drugs</b>	32 (5.25)	0 (0)	32 (5.15)	0.99
<b>Waist/hip ratio – median (IQR)</b>	0.9 (0.84,0.96)	0.93 (0.9,0.97)	0.9 (0.84,0.96)	0.1455
<b>BMI – median (IQR)</b>	24.51 (21.94,27.54)	23.45 (20.78,26.45)	24.48 (21.92,27.51)	0.2722
<b>hs-CRP (mg/dL) – median(IQR)</b>	0.28 (0.17,0.65)	0.32 (0.24,0.44)	0.28 (0.17,0.65)	0.5768
<b>CKD-Epi – median(IQR)</b>	106.91 (93.24,121.45)	108.66 (91.62,117.04)	106.91 (93.22,121.28)	0.6003
<b>SBP – median(IQR)</b>	118 (110,128.88)	137 (122,143.75)	118 (110,129)	0.0133
<b>DBP – median(IQR)</b>	76.5 (70.5,83)	86.5 (77.5,89.5)	77 (70.5,83.5)	0.0133

<sup>a</sup> Columns provide numbers (%) and interquartile range (IQR) where applicable

<sup>b</sup> Mann-Whitney and Chi-Square tests

Abbreviations: IQR – interquartile range; AMI – acute myocardial infarction; CVE – cardiovascular event; BMI – body mass index; DM – diabetes mellitus; HDL – high density lipoprotein; LDL – low density lipoprotein; hs-CRP high sensitivity C-reactive protein; CKD-Epi – Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation; SBP – systolic blood pressure; DBP – diastolic blood pressure; FRS – Framingham Risk Score; DAD –

Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs; ASVCD – Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk Score.

Table 2- cART regimens and HIV-related characteristics of PLHA by incidence of CVE<sup>a</sup>

	<b>CVE-</b>	<b>CVE+</b>	<b>Total</b>	<b>p-value<sup>b</sup></b>
<b>Total</b>	610	11	621	
<b>cART use: Yes</b>	537 (88.18)	11 (100)	548 (88.39)	0.6258
<b>PI-containing regimen</b>	316 (51.8)	6 (54.55)	322 (51.85)	0.9755
<b>NNRTI-containing regimen</b>	394 (64.59)	9 (81.82)	403 (64.9)	0.3442
<b>NRTI-containing regimen</b>	315 (51.64)	6 (54.55)	321 (51.69)	0.99
<b>Cumulative Viral Load—median(IQR)</b>	15.12 (6.77,29.74)	14.21 (8.43,33.17)	15.12 (6.79,29.77)	0.8821
<b>Current CD4 counts (cells/mL)—median(IQR)</b>	538 (371.25,733.25)	441 (196.5,586)	536 (371,731)	0.1083
<b>Nadir CD4 counts</b>	219 (100,316)	121 (85.25,230.75)	217 (98.5,316)	0.1696



**(cells/mL)—  
median(IQR)**

**Undetectable** 430 (71.31) 6 (54.55) 436 (71.01) 0.3115  
**Viral Load:  
Yes**

**Time on cART** 4.12 3.91 4.1 (0.62,9.98) 0.6777  
**(years)—  
median (IQR)**

**Time on PI** 0.11 (0,5.95) 0.19 (0,4.07) 0.11 (0,5.93) 0.9348  
**(years)—  
median (IQR)**

**Time on** 1.07 (0,3.68) 2.18 (0.35,5.52) 1.09 (0,3.69) 0.2035  
**NNRTI  
(years)—  
median (IQR)**

**Time on NRTI** 0.57 0.19 (0,11.13) 0.55 (0,10.94) 0.9297  
**(years)—  
median (IQR)**

---

<sup>a</sup> Columns provide numbers (%) and interquartile range (IQR) where applicable

<sup>b</sup> Mann-Whitney and Chi-Square tests

Abbreviations: cART — combined antiretroviral therapy; PI—protease inhibitors; NNRTI— Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTI - Nucleoside reverse transcriptase inhibitors

Table 3 – Calculated absolute CVD risk scores and categories of DAD, FRS and ASVCD equations in PLHA<sup>a</sup>.

<b>Groups</b>				
	<b>CVE-</b>	<b>CVE+</b>	<b>Total</b>	<b>p value<sup>b</sup></b>
Total	610	11	621	
DAD 5 years median (IQR)	1.42 (0.53,3.44)	4.28 (3.08,5.33)	1.44 (0.55,3.51)	0.0029
DAD 5 years categorized				
High	95 (15.94)	3 (27.27)	98 (16.14)	0.0088
Moderate	247 (41.44)	7 (63.64)	254 (41.85)	
Low	254 (42.62)	1 (9.09)	255 (42.01)	
FRS 5 years median (IQR)	0.87 (0.4,1.89)	2.52 (1.72,4.13)	0.88 (0.41,1.95)	< 0.001
FRS 5 years categorized				0.003
High	27 (4.45)	2 (18.18)	29 (4.69)	
Moderate	248 (40.86)	8 (72.73)	256 (41.42)	
Low	332 (54.7)	1 (9.09)	333 (53.88)	
ASVCD 5 years median (IQR)	1.1 (0.33,2.56)	2.92 (1.82,7.06)	1.13 (0.34,2.62)	< 0.001
ASCVD 5 years categorized				0.004

High	75 (12.36)	4 (36.36)	79 (12.78)
Moderate	247 (40.69)	7 (63.64)	254 (41.1)
Low	285 (46.95)	0 (0)	285 (46.12)

<sup>a</sup> Abbreviations: Framingham Risk Score (FRS), Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (D:A:D) and Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk Score (ASCVD); Columns provide numbers (%) and interquartile range (IQR) where applicable

<sup>b</sup> Mann-Whitney and Chi-Square tests

Table 5- Final Cox model for clinical predictors of CVD in PLHA.

<b>Variable</b>	<b>HR</b>	<b>95%IC</b>	<b>p-value</b>
<b>Sex: Male</b>	0.55	0.13; 2.36	0.425
<b>Age in years</b>	1.03	0.96; 1.10	0.4563
<b>Smoking</b>			
<b>Former</b>	13.21	1.30; 134.50	0.0293
<b>Current</b>	14.0	1.36; 144.22	0.0265
<b>Family History of CVD</b>	7.10	1.09; 46.20	0.040
<b>Hypertension</b>	3.78	0.67; 21.39	0.1319
<b>Treatment for Hypertension</b>	0.59	0.09; 3.68	0.5690
<b>PI-containing regimen</b>	1.04	0.09; 11.72	0.9735
<b>NNRTI-containing regimen</b>	4.08	0.48; 34.95	0.1986
<b>Undetectable Viral Load: Yes</b>	0.13	0.03; 0.61	0.0096

---

<b>Waist/hip ratio</b>	3.57	0; 19266	0.7716
<b>LDL (mg/dL)</b>	1.02	1; 1.04	0.0418
<b>Time on cART (years)</b>	0.77	0.49; 1.21	0.2569
<b>Time on NNRTI (years)</b>	1.31	0.92; 1.86	0.1334
<b>Time on NRTI (years)</b>	1.10	0.79; 1.55	0.5575

---

Abbreviations: CVD – cardiovascular disease; DM – diabetes mellitus; cART – combined antiretroviral therapy; PI—protease inhibitors; NNRTI— Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTI - Nucleoside reverse transcriptase inhibitors

## **6. Considerações finais**

Os principais resultados a serem pontuados deste projeto são:

- **O diabetes mellitus foi associado a aumento na mortalidade em pessoas vivendo com HIV/AIDS, em comparação com indivíduos sem diabetes, mesmo em uma coorte com idade mediana em torno de 40 anos. A associação foi ainda mais forte quando restringimos para o período após 1996 ou para o uso de cART. A contribuição se dá principalmente para causas relacionadas malignidade, doenças hepáticas e cardiovasculares, sendo que esta última não atingiu significância estatística.**
- **A infecção pelo HIV não foi associada a maior rigidez aórtica em pessoas vivendo com HIV/AIDS. A rigidez das artérias grandes está associada a fatores de risco tradicionais, principalmente a adiposidade abdominal e entre aqueles com piores condições socioeconômicas.**
- **Os fatores de risco tradicionais e relacionados ao HIV foram associados à incidência de DCV, sendo observado um gradiente de risco para o tabagismo e proteção para o fator carga viral negativa. Os escores de risco foram inconsistentes na predição de risco cardiovascular, indicando que estudos de validação são necessários para melhorar a avaliação de risco de PVHA no Brasil.**

A partir da análise destes resultados em conjunto, concluímos que uma avaliação mais criteriosa dos fatores de risco tradicionais para o desenvolvimento de DCV, principalmente aqueles considerados modificáveis, é recomendada como medida efetiva para a prevenção primária em PVHA, seguindo os mesmos princípios da população em geral com uma ênfase que

envolve intervenções para o controle do peso e do LDL colesterol, a cessação do tabagismo e o acompanhamento da diabetes mellitus e suas complicações. Estas medidas apresentam potencial impacto para a saúde pública no país, se aplicadas a nível populacional por exemplo. Um ponto que nos chama a atenção é que também detectamos a associação entre DCV subclínica avaliada pela VOP e baixo nível educacional, um importante marcador de status socioeconômico, reforçando a necessidade de medidas governamentais para facilitar o acesso a saúde e a mudança no estilo de vida desta população mais vulnerável.

Uma outra questão relevante é que o uso de TARV foi associada a menor mortalidade no primeiro artigo, e a carga viral negativa associada a menor incidência de DCV no terceiro artigo o que sugere os benefícios do seu uso contínuo na imunomodulação, mediando um efeito adicional na redução da morbimortalidade cardiovascular, apesar de sua toxicidade esperada no perfil metabólico de PVHA.

Além disso, pretendemos seguir a coorte INI-ELSA esperando que a conclusão de dez anos de DCV seja relatada nos prontuários médicos e avançar na validação adequada dos desfechos. No entanto, optamos por informar os resultados preliminares, na medida em que, até onde sabemos, este é o primeiro estudo a ser realizado investigando a incidência e fatores associados à DCV, avaliando seu risco por diferentes equações em um país de renda média.

A validação e classificação dos eventos cardiovasculares também será motivo de outra publicação no campo da epidemiologia. Portanto, no terceiro artigo detectamos que a estimativa pontual de risco absoluto do algoritmo DAD foi mais próxima ao percentual de eventos observados em 5 anos quando comparados com o cálculo pelas equações FRS e ASCVD, sugerindo que em PVHA ferramentas de predição de risco devem incorporar componentes

específicos desta população como por exemplo o uso cumulativo dos esquemas de TARV e alterações de marcadores imunológicos ou inflamatórios. Isto permitiria uma melhor avaliação na identificação de indivíduos considerados de maior risco para o desenvolvimento de DCV e consequentes intervenções para minimizá-lo, entretanto como os resultados foram heterogêneos, inclusive em relação à literatura, apontamos a necessidade de mais estudos para validar adequadamente as ferramentas de risco atualmente disponíveis em nosso cenário.

Relacionamos abaixo as seguintes recomendações que seriam importantes de serem implementadas em nível populacional com o objetivo de reduzir a DCV em pessoas vivendo com HIV/AIDS no Brasil.

#### **7. Recomendações efetivas para a redução de risco cardiovascular em pessoas vivendo com HIV/AIDS.**

- Para indivíduos de alto risco cardiovascular, o tratamento da dislipidemia com uso de estatinas objetivando um LDL inferior a 70 mg/dl, além de:
- Estimular e promover campanhas para um estilo de vida saudável que incluem atividade física de intensidade moderada por um mínimo de 30 minutos em 5 dias da semana e dieta com restrição de calorias para pessoas com um IMC acima de 30 kg / m<sup>2</sup>
- Monitoramento regular da glicemia em intervalos de 6 meses e tratamento do diabetes mellitus objetivando uma hemoglobina glicada abaixo de 7.0, manter o controle pressórico e avaliar o início de antiagregante plaquetário e estatinas.



- Utilizar de programas educacionais estimulando a cessação do tabagismo, reforçando seus riscos e benefícios e o direcionamento médico para clínicas de terapia comportamental, além do uso de medicamentos de suporte como nicotina e bupropiona.
- Medidas de suporte social para facilitar o acesso a TARV e estímulo a sua aderência com mensagens de texto, lembretes e aconselhamento médico visando manter uma percepção positiva em relação a TARV.

## 8. Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> GONCALVES E SILVA, H. C.; SILVA, J.; TRAEBERT, J. Burden of AIDS in a Brazilian state. **J Infect Public Health**, v. 7, n. 4, p. 308-13, Jul-Aug 2014. ISSN 1876-035X (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24786608> >.
- <sup>2</sup> REPORT, U. The Gap Report. 2014. Disponível em: < [http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/UNAIDS\\_Gap\\_report\\_en.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_Gap_report_en.pdf) >.
- <sup>3</sup> GARCIA, P. J.; BAYER, A.; CARCAMO, C. P. The changing face of HIV in Latin America and the Caribbean. **Curr HIV/AIDS Rep**, v. 11, n. 2, p. 146-57, Jun 2014. ISSN 1548-3576 (Electronic) 1548-3568 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24824881> >.
- <sup>4</sup> COBUCCI, R. N. et al. Assessing the impact of HAART on the incidence of defining and non-defining AIDS cancers among patients with HIV/AIDS: a systematic review. **J Infect Public Health**, v. 8, n. 1, p. 1-10, Jan-Feb 2015. ISSN 1876-035X (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25294086> >.
- <sup>5</sup> BRAITSTEIN, P. et al. Mortality of HIV-1-infected patients in the first year of antiretroviral therapy: comparison between low-income and high-income countries. **Lancet**, v. 367, n. 9513, p. 817-24, Mar 11 2006. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16530575> >.
- <sup>6</sup> PALELLA, F. J., JR. et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. **N Engl J Med**, v. 338, n. 13, p. 853-60, Mar 26 1998. Disponível em: < [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=9516219](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9516219) >.
- <sup>7</sup> BRITO, A. M.; CASTILHO, E. A.; SZWARCOWALD, C. L. Regional patterns of the temporal evolution of the AIDS epidemic in Brazil following the introduction of antiretroviral therapy. **Braz J Infect Dis**, v. 9, n. 1, p. 9-19, Feb 2005. ISSN 1413-8670 (Print) 1413-8670 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15947842> >.
- <sup>8</sup> MARINS, J. R. et al. Dramatic improvement in survival among adult Brazilian AIDS patients. **AIDS**, v. 17, n. 11, p. 1675-82, Jul 25 2003. ISSN 0269-9370 (Print). Disponível em: <

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=12853750](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12853750) >.

- <sup>9</sup> COLLABORATION OF OBSERVATIONAL, H. I. V. E. R. E. I. E. et al. All-cause mortality in treated HIV-infected adults with CD4  $\geq$ 500/mm<sup>3</sup> compared with the general population: evidence from a large European observational cohort collaboration. **Int J Epidemiol**, v. 41, n. 2, p. 433-45, Apr 2012. ISSN 1464-3685 (Electronic)

0300-5771 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22493325> >.

- <sup>10</sup> RODGER, A. J. et al. Mortality in well controlled HIV in the continuous antiretroviral therapy arms of the SMART and ESPRIT trials compared with the general population. **AIDS**, v. 27, n. 6, p. 973-9, Mar 27 2013. ISSN 1473-5571 (Electronic)

0269-9370 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23698063> >.

- <sup>11</sup> VAN SIGHEM, A. I. et al. Life expectancy of recently diagnosed asymptomatic HIV-infected patients approaches that of uninfected individuals. **AIDS**, v. 24, n. 10, p. 1527-35, Jun 19 2010. ISSN 1473-5571 (Electronic)

0269-9370 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20467289> >.

- <sup>12</sup> TRIANT, V. A. et al. Increased acute myocardial infarction rates and cardiovascular risk factors among patients with human immunodeficiency virus disease. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 92, n. 7, p. 2506-12, Jul 2007. ISSN 0021-972X (Print)

0021-972X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17456578> >.

- <sup>13</sup> BUTT, A. A. et al. HIV infection and the risk of diabetes mellitus. **AIDS**, v. 23, n. 10, p. 1227-34, Jun 19 2009. ISSN 1473-5571 (Electronic)

0269-9370 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19444074> >.

- <sup>14</sup> SMITH, C. J. et al. Trends in underlying causes of death in people with HIV from 1999 to 2011 (D:A:D): a multicohort collaboration. **Lancet**, v. 384, n. 9939, p. 241-8, Jul 19 2014. ISSN 1474-547X (Electronic)

0140-6736 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25042234> >.

- <sup>15</sup> NEUHAUS, J. et al. Risk of all-cause mortality associated with nonfatal AIDS and serious non-AIDS events among adults infected with HIV. **AIDS**, v. 24, n. 5, p. 697-706, Mar 13 2010. ISSN 1473-5571 (Electronic)

0269-9370 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20177360> >.

<sup>16</sup> BARBARO, G. Highly active antiretroviral therapy-associated metabolic syndrome: pathogenesis and cardiovascular risk. **Am J Ther**, v. 13, n. 3, p. 248-60, May-Jun 2006. ISSN 1075-2765 (Print)

1075-2765 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16772767> >.

<sup>17</sup> CRUM, N. F. et al. Comparisons of causes of death and mortality rates among HIV-infected persons: analysis of the pre-, early, and late HAART (highly active antiretroviral therapy) eras. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 41, n. 2, p. 194-200, Feb 1 2006. Disponível em: < [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=16394852](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16394852) >.

<sup>18</sup> SACKOFF, J. E. et al. Causes of death among persons with AIDS in the era of highly active antiretroviral therapy: New York City. **Ann Intern Med**, v. 145, n. 6, p. 397-406, Sep 19 2006. Disponível em: < [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=16983127](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16983127) >.

<sup>19</sup> SMIT, C. et al. Effective therapy has altered the spectrum of cause-specific mortality following HIV seroconversion. **AIDS**, v. 20, n. 5, p. 741-9, Mar 21 2006. Disponível em: < [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=16514305](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16514305) >.

<sup>20</sup> PALELLA, F. J., JR. et al. Mortality in the Highly Active Antiretroviral Therapy Era: Changing Causes of Death and Disease in the HIV Outpatient Study. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 43, n. 1, p. 27-34, Sep 2006. Disponível em: < [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=16878047](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16878047) >.

<sup>21</sup> SELIK, R. M.; BYERS, R. H., JR.; DWORKIN, M. S. Trends in diseases reported on U.S. death certificates that mentioned HIV infection, 1987-1999. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 29, n. 4, p. 378-87, Apr 1 2002. Disponível em: < [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=11917243](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11917243) >.

<sup>22</sup> OBEL, N. et al. Ischemic heart disease in HIV-infected and HIV-uninfected individuals: a population-based cohort study. **Clin Infect Dis**, v. 44, n. 12, p. 1625-31, Jun 15 2007. ISSN 1537-6591 (Electronic)

1058-4838 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17516408> >.

<sup>23</sup> PACHECO, A. G. et al. Increase in non-AIDS related conditions as causes of death among HIV-infected individuals in the HAART era in Brazil. **PLoS ONE**, v. 3, n. 1, p. e1531, 2008.

<sup>24</sup> PAULA, A. A. et al. Continuous increase of cardiovascular diseases, diabetes, and non-HIV related cancers as causes of death in HIV-infected individuals in Brazil: an analysis of nationwide data. **PLoS One**, v. 9, n. 4, p. e94636, 2014. ISSN 1932-6203 (Electronic)

1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24728320> >.

<sup>25</sup> PACHECO, A. G. et al. Temporal changes in causes of death among HIV-infected patients in the HAART era in Rio de Janeiro, Brazil. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 51, n. 5, p. 624-30, 2009.

<sup>26</sup> GRINSZTEJN, B. et al. Changing mortality profile among HIV-infected patients in Rio de Janeiro, Brazil: shifting from AIDS to non-AIDS related conditions in the HAART era. **PLoS One**, v. 8, n. 4, p. e59768, 2013. ISSN 1932-6203 (Electronic)

1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23577074> >.

<sup>27</sup> SAÚDE, M. D. **Boletim Epidemiológico - Aids e DST**. Boletim Epidemiológico - Aids e DST. 1 2013.

<sup>28</sup> COCCHERI, S. Approaches to prevention of cardiovascular complications and events in diabetes mellitus. **Drugs**, v. 67, n. 7, p. 997-1026, 2007. ISSN 0012-6667 (Print)

0012-6667 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17488145> >.

<sup>29</sup> WOJCIECHOWSKA, J. et al. Diabetes and Cancer: a Review of Current Knowledge. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v. 124, n. 5, p. 263-75, May 2016. ISSN 1439-3646 (Electronic)

0947-7349 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27219686> >.

<sup>30</sup> GEISS, L. S. et al. Surveillance for diabetes mellitus--United States, 1980-1989. **MMWR CDC Surveill Summ**, v. 42, n. 2, p. 1-20, Jun 4 1993. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8510638> >.

<sup>31</sup> HAFFNER, S. M. et al. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. **N Engl J Med**, v. 339, n. 4, p. 229-34, Jul 23 1998. ISSN 0028-4793 (Print)

0028-4793 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9673301> >.

<sup>32</sup> SMITH, J. W.; MARCUS, F. I.; SEROKMAN, R. Prognosis of patients with diabetes mellitus after acute myocardial infarction. **Am J Cardiol**, v. 54, n. 7, p. 718-21, Oct 1 1984. ISSN 0002-9149 (Print)

0002-9149 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6385680> >.

<sup>33</sup> MOSSERI, M. et al. Diffuse narrowing of coronary arteries in diabetic patients: the earliest phase of coronary artery disease. **Cardiology**, v. 89, n. 2, p. 103-10, 1998. ISSN 0008-6312 (Print)

0008-6312 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9524010> >.

<sup>34</sup> DORTIMER, A. C. et al. Diffuse coronary artery disease in diabetic patients: fact or fiction? **Circulation**, v. 57, n. 1, p. 133-6, Jan 1978. ISSN 0009-7322 (Print)

0009-7322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/618380> >.

<sup>35</sup> GRUNDY, S. M. et al. Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. **Circulation**, v. 100, n. 10, p. 1134-46, Sep 7 1999. ISSN 1524-4539 (Electronic)

0009-7322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10477542> >.

<sup>36</sup> DATASUS. **Taxa de mortalidade específica por diabete melito – C.12** <http://tabnet.datasus.gov.br/tabdata/LivroIDB/2edrev/c12.pdf>: DATASUS.

<sup>37</sup> KALRA, S.; AGRAWAL, N. Diabetes and HIV: current understanding and future perspectives. **Curr Diab Rep**, v. 13, n. 3, p. 419-27, Jun 2013. ISSN 1539-0829 (Electronic)

1534-4827 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23446780> >.

<sup>38</sup> GALLI, L. et al. Risk of type 2 diabetes among HIV-infected and healthy subjects in Italy. **Eur J Epidemiol**, v. 27, n. 8, p. 657-65, Aug 2012. ISSN 1573-7284 (Electronic)

0393-2990 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22722952> >.

<sup>39</sup> DE WIT, S. et al. Incidence and risk factors for new-onset diabetes in HIV-infected patients: the Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (D:A:D) study. **Diabetes Care**, v. 31, n. 6, p. 1224-9, Jun 2008. ISSN 1935-5548 (Electronic)

0149-5992 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18268071> >.

<sup>40</sup> SORIANO, V. et al. Viral hepatitis and HIV co-infection. **Antiviral Res**, v. 85, n. 1, p. 303-15, Jan 2010. ISSN 1872-9096 (Electronic)

0166-3542 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19887087> >.

<sup>41</sup> KONERMAN, M. A. et al. Fibrosis progression in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus coinfecting adults: prospective analysis of 435 liver biopsy pairs. **Hepatology**, v. 59, n. 3, p. 767-75, Mar 2014. ISSN 1527-3350 (Electronic)

0270-9139 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24436062> >.

<sup>42</sup> GRAHAM, C. S. et al. Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. **Clin Infect Dis**, v. 33, n. 4, p. 562-9, Aug 15 2001. ISSN 1058-4838 (Print)

1058-4838 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11462196> >.

<sup>43</sup> KALRA, S. et al. Understanding diabetes in patients with HIV/AIDS. **Diabetol Metab Syndr**, v. 3, n. 1, p. 2, 2011. ISSN 1758-5996 (Electronic)

1758-5996 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21232158> >.

<sup>44</sup> KLEIN, D. et al. Do protease inhibitors increase the risk for coronary heart disease in patients with HIV-1 infection? **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 30, n. 5, p. 471-7, Aug 15 2002. ISSN 1525-4135 (Print)

1525-4135 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12154337> >.

<sup>45</sup> BEHRENS, G. M. Cardiovascular risk and body-fat abnormalities in HIV-infected adults. **N Engl J Med**, v. 352, n. 16, p. 1721-2; author reply 1721-2, Apr 21 2005. ISSN 1533-4406 (Electronic)

0028-4793 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15843678> >.

<sup>46</sup> RIDDLE, S. A. et al. Impact of HIV infection and HAART on serum lipids in men. **JAMA**, v. 289, n. 22, p. 2978-82, Jun 11 2003. ISSN 1538-3598 (Electronic)

0098-7484 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12799406> >.

<sup>47</sup> LEDERGERBER, B. et al. Factors associated with the incidence of type 2 diabetes mellitus in HIV-infected participants in the Swiss HIV Cohort Study. **Clin Infect Dis**, v. 45, n. 1, p. 111-9, Jul 1 2007. ISSN 1537-6591 (Electronic)

1058-4838 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17554711> >.

<sup>48</sup> FLEISCHMAN, A. et al. Effects of a nucleoside reverse transcriptase inhibitor, stavudine, on glucose disposal and mitochondrial function in muscle of healthy adults. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 292, n. 6, p. E1666-73, Jun 2007. ISSN 0193-1849 (Print)

0193-1849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17284576> >.

<sup>49</sup> HRESKO, R. C.; HRUZ, P. W. HIV protease inhibitors act as competitive inhibitors of the cytoplasmic glucose binding site of GLUTs with differing affinities for GLUT1 and GLUT4. **PLoS One**, v. 6, n. 9, p. e25237, 2011. ISSN 1932-6203 (Electronic)

1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21966466> >.

<sup>50</sup> GRINSPOON, S. Diabetes mellitus, cardiovascular risk, and HIV disease. **Circulation**, v. 119, n. 6, p. 770-2, Feb 17 2009. ISSN 1524-4539 (Electronic)

0009-7322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19221228> >.

<sup>51</sup> FREIBERG, M. S. et al. HIV infection and the risk of acute myocardial infarction. **JAMA Intern Med**, v. 173, n. 8, p. 614-22, Apr 22 2013. ISSN 2168-6114 (Electronic)

2168-6106 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23459863> >.

<sup>52</sup> LIFSON, A. R. et al. Smoking-related health risks among persons with HIV in the Strategies for Management of Antiretroviral Therapy clinical trial. **Am J Public Health**, v. 100, n. 10, p. 1896-903, Oct 2010. ISSN 1541-0048 (Electronic)

0090-0036 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20724677> >.

<sup>53</sup> FRIIS-MOLLER, N. et al. Cardiovascular disease risk factors in HIV patients--association with antiretroviral therapy. Results from the DAD study. **AIDS**, v. 17, n. 8, p. 1179-93, May 23 2003. ISSN 0269-9370 (Print)

0269-9370 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12819520> >.

<sup>54</sup> WHO. Prevalence of tobacco use among adults and adolescents. 2009. Disponível em: < [http://gamapserver.who.int/gho/interactive\\_charts/tobacco/use/atlas.html](http://gamapserver.who.int/gho/interactive_charts/tobacco/use/atlas.html) >.

<sup>55</sup> TRIANT, V. A. Epidemiology of coronary heart disease in patients with human immunodeficiency virus. **Rev Cardiovasc Med**, v. 15 Suppl 1, p. S1-8, 2014. ISSN 1530-6550 (Print)

1530-6550 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24987859> >.



<sup>56</sup> HSUE, P. Y. et al. Clinical features of acute coronary syndromes in patients with human immunodeficiency virus infection. **Circulation**, v. 109, n. 3, p. 316-9, Jan 27 2004. ISSN 1524-4539 (Electronic)

0009-7322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14718406> >.

<sup>57</sup> YE, Y. et al. HIV infection: an independent risk factor of peripheral arterial disease. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 53, n. 2, p. 276-8, Feb 1 2010. ISSN 1944-7884 (Electronic)

1525-4135 (Linking). Disponível em: < [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=20104124](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=20104124) >.

<sup>58</sup> PACHECO, A. G. et al. Traditional risk factors are more relevant than HIV-specific ones for carotid intima-media thickness (cIMT) in a Brazilian cohort of HIV-infected patients. **PLoS One**, v. 10, n. 2, p. e0117461, 2015. ISSN 1932-6203 (Electronic)

1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25692764> >.

<sup>59</sup> PACHECO, A. G. et al. HIV Infection Is Not Associated with Carotid Intima-Media Thickness in Brazil: A Cross-Sectional Analysis from the INI/ELSA-Brasil Study. **PLoS One**, v. 11, n. 7, p. e0158999, 2016. ISSN 1932-6203 (Electronic)

1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27391355> >.

<sup>60</sup> DE GAETANO DONATI, K. et al. HIV infection, HAART, and endothelial adhesion molecules: current perspectives. **Lancet Infect Dis**, v. 4, n. 4, p. 213-22, Apr 2004. ISSN 1473-3099 (Print)

1473-3099 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15050939> >.

<sup>61</sup> MARIN, B. et al. Non-AIDS-defining deaths and immunodeficiency in the era of combination antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 23, n. 13, p. 1743-53, Aug 24 2009. ISSN 1473-5571 (Electronic)

0269-9370 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19571723> >.

<sup>62</sup> ZANNI, M. V. et al. Risk of coronary heart disease in patients with HIV infection. **Nat Rev Cardiol**, v. 11, n. 12, p. 728-41, Dec 2014. ISSN 1759-5010 (Electronic)

1759-5002 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25331088> >.

- <sup>63</sup> HSUE, P. Y. et al. Role of viral replication, antiretroviral therapy, and immunodeficiency in HIV-associated atherosclerosis. **AIDS**, v. 23, n. 9, p. 1059-67, Jun 1 2009. ISSN 1473-5571 (Electronic) 0269-9370 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19390417> >.
- <sup>64</sup> DUPREZ, D. A. et al. Inflammation, coagulation and cardiovascular disease in HIV-infected individuals. **PLoS One**, v. 7, n. 9, p. e44454, 2012. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22970224> >.
- <sup>65</sup> HSUE, P. Y.; DEEKS, S. G.; HUNT, P. W. Immunologic basis of cardiovascular disease in HIV-infected adults. **J Infect Dis**, v. 205 Suppl 3, p. S375-82, Jun 2012. ISSN 1537-6613 (Electronic) 0022-1899 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22577211> >.
- <sup>66</sup> HO, J. et al. **Earlier Initiation of ART in HIV-infected Individuals Is Associated with Reduced Arterial Stiffness.** 17th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections. San Francisco. Paper# 707 2010.
- <sup>67</sup> EL-SADR, W. M. et al. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. **N Engl J Med**, v. 355, n. 22, p. 2283-96, Nov 30 2006. ISSN 1533-4406 (Electronic). Disponível em: < [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=17135583](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17135583) >.
- <sup>68</sup> PHILLIPS, A. N.; NEATON, J.; LUNDGREN, J. D. The role of HIV in serious diseases other than AIDS. **AIDS**, v. 22, n. 18, p. 2409-18, Nov 30 2008. ISSN 1473-5571 (Electronic) 0269-9370 (Linking). Disponível em: < [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=19005264](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=19005264) >.
- <sup>69</sup> KULLER, L. H. et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. **PLoS Med**, v. 5, n. 10, p. e203, Oct 21 2008. ISSN 1549-1676 (Electronic). Disponível em: < [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=18942885](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=18942885) >.
- <sup>70</sup> GROUP, I. S. S. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. **N Engl J Med**, Jul 20 2015. ISSN 1533-4406 (Electronic) 0028-4793 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26192873> >.

<sup>71</sup> GROUP, T. A. S. A Trial of Early Antiretrovirals and Isoniazid Preventive Therapy in Africa. **N Engl J Med**, Jul 20 2015. ISSN 1533-4406 (Electronic)

0028-4793 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26193126> >.

<sup>72</sup> GUNTARD, H. F. et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2014 recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. **JAMA**, v. 312, n. 4, p. 410-25, Jul 23-30 2014. ISSN 1538-3598 (Electronic)

0098-7484 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25038359> >.

<sup>73</sup> VAN BORTEL, L. M. et al. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. **J Hypertens**, v. 30, n. 3, p. 445-8, Mar 2012. ISSN 1473-5598 (Electronic)

0263-6352 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22278144> >.

<sup>74</sup> WAGENSEIL, J. E.; MECHAM, R. P. Elastin in large artery stiffness and hypertension. **J Cardiovasc Transl Res**, v. 5, n. 3, p. 264-73, Jun 2012. ISSN 1937-5395 (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22290157> >.

<sup>75</sup> MACKENZIE, I. S.; WILKINSON, I. B.; COCKCROFT, J. R. Assessment of arterial stiffness in clinical practice. **QJM**, v. 95, n. 2, p. 67-74, Feb 2002. ISSN 1460-2725 (Print)

1460-2393 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11861952> >.

<sup>76</sup> SPRONCK, B. et al. Pressure-dependence of arterial stiffness: potential clinical implications. **J Hypertens**, v. 33, n. 2, p. 330-8, Feb 2015. ISSN 1473-5598 (Electronic)

0263-6352 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25380150> >.

<sup>77</sup> SEHESTEDT, T. et al. Risk prediction is improved by adding markers of subclinical organ damage to SCORE. **Eur Heart J**, v. 31, n. 7, p. 883-91, Apr 2010. ISSN 1522-9645 (Electronic)

0195-668X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20034972> >.

<sup>78</sup> BOUTOUYRIE, P. et al. Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients: a longitudinal study. **Hypertension**, v. 39, n. 1, p. 10-5, Jan 2002. ISSN 1524-4563 (Electronic)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11799071> >.

<sup>79</sup> MATTACE-RASO, F. U. et al. Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam Study. **Circulation**, v. 113, n. 5, p. 657-63, Feb 7 2006. ISSN 1524-4539 (Electronic)

0009-7322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16461838> >.

<sup>80</sup> VLACHOPOULOS, C.; AZNAOURIDIS, K.; STEFANADIS, C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. **J Am Coll Cardiol**, v. 55, n. 13, p. 1318-27, Mar 30 2010. ISSN 1558-3597 (Electronic)

0735-1097 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20338492> >.

<sup>81</sup> HULTEN, E. et al. HIV positivity, protease inhibitor exposure and subclinical atherosclerosis: a systematic review and meta-analysis of observational studies. **Heart**, v. 95, n. 22, p. 1826-35, Nov 2009. ISSN 1468-201X (Electronic)

1355-6037 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19632982> >.

<sup>82</sup> CHARTRAND-LEFEBVRE, C.; DURAND, M.; TREMBLAY, C. HIV infection and subclinical coronary atherosclerosis. **Ann Intern Med**, v. 161, n. 12, p. 923, Dec 16 2014. ISSN 1539-3704 (Electronic)

0003-4819 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25506860> >.

<sup>83</sup> HO, J. E. et al. Initiation of antiretroviral therapy at higher nadir CD4+ T-cell counts is associated with reduced arterial stiffness in HIV-infected individuals. **AIDS**, v. 24, n. 12, p. 1897-905, Jul 31 2010. ISSN 1473-5571 (Electronic)

0269-9370 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20543654> >.

<sup>84</sup> SCHILLACI, G. et al. Impact of treatment with protease inhibitors on aortic stiffness in adult patients with human immunodeficiency virus infection. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 25, n. 11, p. 2381-5, Nov 2005. ISSN 1524-4636 (Electronic)

1079-5642 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16123321> >.

<sup>85</sup> SEVASTIANOVA, K. et al. Arterial stiffness in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. **Antivir Ther**, v. 10, n. 8, p. 925-35, 2005. ISSN 1359-6535 (Print)

1359-6535 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16430198> >.

<sup>86</sup> LEKAKIS, J. et al. Association of highly active antiretroviral therapy with increased arterial stiffness in patients infected with human immunodeficiency virus. **Am J Hypertens**, v. 22, n. 8, p. 828-34, Aug 2009. ISSN 1941-7225 (Electronic)

0895-7061 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19556973> >.

<sup>87</sup> SCHILLACI, G. et al. Aortic stiffness in untreated adult patients with human immunodeficiency virus infection. **Hypertension**, v. 52, n. 2, p. 308-13, Aug 2008. ISSN 1524-4563 (Electronic)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18559718> >.

<sup>88</sup> MONTEIRO, P. et al. Is arterial stiffness in HIV-infected individuals associated with HIV-related factors? **Braz J Med Biol Res**, v. 45, n. 9, p. 818-26, Sep 2012. ISSN 1414-431X (Electronic)

0100-879X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22782555> >.

<sup>89</sup> STEYERBERG, E. W. et al. Assessing the performance of prediction models: a framework for traditional and novel measures. **Epidemiology**, v. 21, n. 1, p. 128-38, Jan 2010. ISSN 1531-5487 (Electronic)

1044-3983 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20010215> >.

<sup>90</sup> D'AGOSTINO, R. B., SR. Cardiovascular risk estimation in 2012: lessons learned and applicability to the HIV population. **J Infect Dis**, v. 205 Suppl 3, p. S362-7, Jun 2012. ISSN 1537-6613 (Electronic)

0022-1899 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22577209> >.

<sup>91</sup> TALWALKAR, P. G. et al. Journey in guidelines for lipid management: From adult treatment panel (ATP)-I to ATP-III and what to expect in ATP-IV. **Indian J Endocrinol Metab**, v. 17, n. 4, p. 628-35, Jul 2013. ISSN 2230-8210 (Print)

2230-9500 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23961478> >.

<sup>92</sup> WILSON, P. W. et al. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. **Circulation**, v. 97, n. 18, p. 1837-47, May 12 1998. ISSN 0009-7322 (Print)

0009-7322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9603539> >.

<sup>93</sup> D'AGOSTINO, R. B., SR. et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 117, n. 6, p. 743-53, Feb 12 2008. ISSN 1524-4539 (Electronic)

0009-7322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18212285> >.

<sup>94</sup> FRIIS-MOLLER, N. et al. Predicting the risk of cardiovascular disease in HIV-infected patients: the data collection on adverse effects of anti-HIV drugs study. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v. 17, n. 5, p. 491-501, Oct 2010. ISSN 1741-8275 (Electronic)

1741-8267 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20543702> >.

<sup>95</sup> LAW, M. et al. Modelling the 3-year risk of myocardial infarction among participants in the Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (DAD) study. **HIV Med**, v. 4, n. 1, p. 1-10, Jan 2003. ISSN 1464-2662 (Print)

1464-2662 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12534953> >.

<sup>96</sup> MUNTNER, P. et al. Validation of the atherosclerotic cardiovascular disease Pooled Cohort risk equations. **JAMA**, v. 311, n. 14, p. 1406-15, Apr 9 2014. ISSN 1538-3598 (Electronic)

0098-7484 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24682252> >.

<sup>97</sup> PREISS, D.; KRISTENSEN, S. L. The new pooled cohort equations risk calculator. **Can J Cardiol**, v. 31, n. 5, p. 613-9, May 2015. ISSN 1916-7075 (Electronic)

0828-282X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25843167> >.

<sup>98</sup> AQUINO, E. M. et al. Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil): objectives and design. **Am J Epidemiol**, v. 175, n. 4, p. 315-24, Feb 15 2012. ISSN 1476-6256 (Electronic)

0002-9262 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22234482> >.

<sup>99</sup> MILL, J. G. et al. [Medical assessments and measurements in ELSA-Brasil]. **Rev Saude Publica**, v. 47 Suppl 2, p. 54-62, Jun 2013. ISSN 1518-8787 (Electronic)

0034-8910 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24346721> >.

<sup>100</sup> CALCAGNO, V.; DE MAZANCOURT, C. glmulti: An R Package for Easy Automated Model Selection with (Generalized) Linear Models. **2010**, v. 34, n. 12, p. 29, 2010-05-31 2010. ISSN 1548-7660. Disponível em: < <https://http://www.jstatsoft.org/index.php/jss/article/view/v034i12> >.

<sup>101</sup> MCCAFFREY, D. F.; RIDGEWAY, G.; MORRAL, A. R. Propensity score estimation with boosted regression for evaluating causal effects in observational studies. **Psychol Methods**, v. 9, n. 4, p. 403-25, Dec 2004. ISSN 1082-989X (Print)

1082-989X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15598095> >.

<sup>102</sup> STUART, E. A. Matching methods for causal inference: A review and a look forward. **Stat Sci**, v. 25, n. 1, p. 1-21, Feb 1 2010. ISSN 0883-4237 (Print)

0883-4237 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20871802> >.

<sup>103</sup> GARRIDO, M. M. et al. Methods for constructing and assessing propensity scores. **Health Serv Res**, v. 49, n. 5, p. 1701-20, Oct 2014. ISSN 1475-6773 (Electronic)

0017-9124 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24779867> >.

<sup>104</sup> STUART, E. A.; LEE, B. K.; LEACY, F. P. Prognostic score-based balance measures can be a useful diagnostic for propensity score methods in comparative effectiveness research. **J Clin Epidemiol**, v. 66, n. 8 Suppl, p. S84-S90 e1, Aug 2013. ISSN 1878-5921 (Electronic)

0895-4356 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23849158> >.

<sup>105</sup> R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing 2010.

<sup>106</sup> MCCORMICK, N. et al. Validity of myocardial infarction diagnoses in administrative databases: a systematic review. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e92286, 2014. ISSN 1932-6203 (Electronic)

1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24682186> >.

<sup>107</sup> O'GARA, P. T. et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. **Circulation**, v. 127, n. 4, p. e362-425, Jan 29 2013. ISSN 1524-4539 (Electronic)

0009-7322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23247304> >.

<sup>108</sup> SOCIEDADE BRASILEIRA DE, C. [Guidelines for Unstable Angina and Non-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction of the Brazilian Society of Cardiology (II Edition,2007)]. **Arq Bras Cardiol**, v. 89, n. 4, p. e89-131, Oct 2007. ISSN 1678-4170 (Electronic)

0066-782X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17992375> >.

<sup>109</sup> CANNON, C. P. et al. 2013 ACCF/AHA key data elements and definitions for measuring the clinical management and outcomes of patients with acute coronary syndromes and coronary

artery disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Clinical Data Standards (Writing Committee to Develop Acute Coronary Syndromes and Coronary Artery Disease Clinical Data Standards). **Crit Pathw Cardiol**, v. 12, n. 2, p. 65-105, Jun 2013. ISSN 1535-2811 (Electronic)

1535-2811 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23680811> >.

<sup>110</sup> LIFSON, A. R. et al. Development of diagnostic criteria for serious non-AIDS events in HIV clinical trials. **HIV Clin Trials**, v. 11, n. 4, p. 205-19, Jul-Aug 2010. ISSN 1528-4336 (Print)

1528-4336 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20974576> >.

<sup>111</sup> RADFORD, M. J. et al. ACC/AHA key data elements and definitions for measuring the clinical management and outcomes of patients with chronic heart failure: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Data Standards (Writing Committee to Develop Heart Failure Clinical Data Standards): developed in collaboration with the American College of Chest Physicians and the International Society for Heart and Lung Transplantation: endorsed by the Heart Failure Society of America. **Circulation**, v. 112, n. 12, p. 1888-916, Sep 20 2005. ISSN 1524-4539 (Electronic)

0009-7322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16162914> >.

<sup>112</sup> J. M DE FARIA; R.C. MOREIRA; S W. CARDOSO;R.I. MOREIRA; S. RIBEIRO; V. G. VELOSO; B.GRINSZTEJN; A.G. PACHECO. Validação de eventos cardiovasculares em uma Coorte HIV positivo do Instituto

Evandro Chagas. **X congresso Brasileiro de Epidemiologia**, 2017.

<sup>113</sup> COX, D. R. Regression Models and Life-Tables. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)** v. 34, n. 2, p. 187-220, 1972.

<sup>114</sup> MOREIRA, R. C. et al. Diabetes Mellitus is Associated with Increased Death Rates Among HIV-Infected Patients in Rio de Janeiro, Brazil. **AIDS Res Hum Retroviruses**, Jul 14 2016. ISSN 1931-8405 (Electronic)

0889-2229 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27329066> >.

<sup>115</sup> MOREIRA, R. C. et al. HIV Infection Is Not Associated With Aortic Stiffness. Traditional Cardiovascular Risk Factors Are the Main Determinants-Cross-sectional Results of INI-ELSA-BRASIL. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 78, n. 1, p. 73-81, May 1 2018. ISSN 1944-7884 (Electronic)

1525-4135 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29624545> >.



