



**UFAM**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**JOÃO VIRIATO MAZALO**

**PROTEÍNA TREM-1 SOLÚVEL COMO PREDITOR DE  
MORTALIDADE EM PACIENTES HIV/AIDS  
INTERNADOS: UMA COORTE PROSPECTIVA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Manaus**

**2021**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**JOÃO VIRIATO MAZALO**

**PROTEÍNA TREM-1 SOLÚVEL COMO PREDITOR DE  
MORTALIDADE EM PACIENTES HIV/AIDS  
INTERNADOS: UMA COORTE PROSPECTIVA**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção de Título de Mestre em Ciências da Saúde, no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Nível de Mestrado Acadêmico. Linha de Pesquisa: Pesquisa Clínica e Saúde Pública.

Orientador:  
Prof. Dr. Antônio Luiz Boechat Lopes

Coorientadora:  
Profa. Dra. Roberta Lins Gonçalves


Manaus  
2021

JOÃO VIRIATO MAZALO

**PROTEÍNA TREM-1 SOLÚVEL COMO PREDITOR DE  
MORTALIDADE EM PACIENTES HIV/AIDS  
INTERNADOS: UMA COORTE PROSPECTIVA**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção de Título de Mestre em Ciências da Saúde, no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Nível de Mestrado Acadêmico. Linha de Pesquisa: Pesquisa Clínica e Saúde Pública.

**BANCA EXAMINADORA**



Prof. Dr. Antônio Luiz Ribeiro Boechat Lopes, Presidente  
Universidade Federal do Amazonas (UFAM)



Prof. Dr. Jonas Byk, Membro Interno  
Universidade Federal do Amazonas (UFAM)



Prof. Dr. Marcelo Coutinho de Miranda, Membro Externo  
Albert Einstein College of Medicine

### Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

M475p Mazalo, João Viriato  
Proteína TREM-1 solúvel como preditor de mortalidade em  
pacientes HIV/AIDS internados: uma coorte prospectiva / João  
Viriato Mazalo . 2021  
59 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Antônio Luiz Boechat Lopes  
Coorientadora: Roberta Lins Gonçalves  
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade  
Federal do Amazonas.

1. Hiv. 2. Macrófagos. 3. Mortalidade. 4. Prognóstico. 5. Trem-1. I.  
Lopes, Antônio Luiz Boechat. II. Universidade Federal do  
Amazonas III. Título

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho à minha mãe Hortência Marcos Macamo, heroína que sempre acreditou na minha capacidade intelectual e desdobrou os esforços para proporcionar-me educação, carinho e nunca faltar o essencial durante todo o meu percurso acadêmico. Sem esse suporte não teria alcançado esse feito gratificante, muito obrigado rainha!

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter-me iluminado, protegido e guiado durante toda a minha formação longe da minha família, proporcionando-me saúde, conhecimento e sabedoria para superar os obstáculos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Antônio Luiz Ribeiro Boechat Lopes, minha fonte de inspiração, sendo sincero, palavras me faltam para descrever o quão bom foi apreender e desfrutar do seu conhecimento, foi graças ao seu incentivo, paciência e confiança ao longo da supervisão desta dissertação que consegue moldar-me no mundo da ciência e da pesquisa.

A minha coorientadora Profa. Dra. Roberta Lins Gonçalves, agradeço pelo apoio e acompanhamento, desde o primeiro dia da minha estadia aqui no Brasil, por ter acreditado em mim, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube em inculir em mim a arte de refletir, duvidar e nunca encarar a ciência como estática, para além de ser uma excelente coordenadora e profissional, é uma excelente pessoa.

A minha companheira, a minha família e meus amigos, que acreditaram na minha dedicação e no meu empenho, a vossa companhia mesmo à distância sempre significou segurança e certeza de que nunca estive sozinho nessa caminhada.

A Profa. Dra. Aya Sadahiro, pelo apoio e dedicação na realização da análise de amostras, que mesmo no período de pandemia, desdobrou os seus esforços e fez um grande sacrifício.

A Médica Especialista Monique Freire dos Reis e a Profa. Dra. Taynná Rocha Almeida, pelo apoio na coleta das amostras, atenção e disponibilidade durante o processo da realização da pesquisa.

A Coordenação do Curso de Ciências da Saúde, ao Corpo Docente, por proporcionar-me o conhecimento intelectual e suporte científico durante toda a minha formação, só tenho a dizer muito obrigado por tornarem-me um profissional melhor.

Ao grupo de pesquisadores do PROCAD Amazônia, pelo acompanhamento no decorrer das pesquisas e pela disponibilidade da sua atenção no decorrer da coleta de dados.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por ter me concedido essa oportunidade maravilhosa de estudar no Brasil e de financiar a minha pesquisa. E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, como professores, amigos e colegas, que desde a minha chegada no Brasil fizeram de tudo para que eu me sentisse em casa, graças a vocês posso dizer que construí uma família aqui, e por isso, afirmo com certeza, que a minha formação, no âmbito acadêmico e social, não teria sido a mesma sem o vosso apoio, muito obrigado!

*“Se o preconceito é doença mental, a informação é a cura, todos unidos podemos combater a discriminação pelo HIV”.*

*Grupo de incentivo a vida*

## RESUMO

**Introdução:** O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo. Os reservatórios virais são a principal barreira para alcançar a cura do HIV em indivíduos infectados, mesmo na presença da Terapia Antirretroviral (TARV). Os macrófagos infectados pelo HIV migram para vários tecidos, constituído um reservatório viral estável em produção contínua. O TREM-1 é uma proteína da célula mielóide-1, expresso em monócitos/macrófagos e neutrófilos, fundamental na regulação e ampliação da inflamação na resposta imunológica. **Objetivo:** Avaliar se a proteína sTREM-1 tem valor preditor de mortalidade em pacientes HIV/AIDS internados por causas de admissão hospitalar relacionadas ao HIV, em um hospital de referência no município de Manaus-AM, Brasil. **Metodologia:** Realizou-se um estudo de coorte prospectivo em pacientes internados na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT – HVD), com segmento de 28 dias para a previsão de mortalidade. Foram identificados no estudo um total de 340 pacientes, que atendiam os critérios de elegibilidade, dos quais foram incluídos 260. O plasma sTREM-1 foi quantificado por ELISA. Para avaliar a correlação entre o sTREM-1 e a previsão de mortalidade em pacientes HIV, calculou-se a Curva ROC, Área Sob a Curva (AUC) e Regressão Multivariada de Poisson. **Resultados:** Dos 260 pacientes incluídos, 81,9% sobreviveram e 18,1% foram a óbito. No grupo óbito o valor médio de sTREM-1 foi maior ( $885,9 \pm 197,7$ ) comparados aos que sobreviveram ( $555,8 \pm 134,3$ ;  $p = 0,0001$ ), com grande magnitude de efeito (Cohen's Q) 1,96, para uma diferença média de  $392,4 \pm 54,7$  pg/mL (teste Mann-Whitney para ranks;  $p < 0,0001$ ). A AUC foi 0.91 IC 95% 0.85 – 0.97 ( $p < 0,0001$ ). O Valor de cut-off selecionado para sTREM-1 alto foi 683,8pg/mL com a melhor classificação correta de casos em 84,23%, sensibilidade de 89,36% (IC 95% 74,8 – 94,2%) e especificidade 83,10% (IC 95% 80,1 – 89,6%). A razão de probabilidade positiva (LR+) calculada foi 5,28 e negativa (LR-) de 0,13. A Regressão Multivariada de Poisson foi calculada classificando os níveis séricos de sTREM-1 no soro conforme valor cut-off (Alto > 683,8pg/mL ou Baixo <683,8pg/mL), onde o sTREM-1 alto se mostrou com melhor performance para predição de óbito com alta razão de Densidade de Incidência (IRR 16.7,  $p = 0,000$ ). **Conclusão:** Em suma, esses achados indicam que o sTREM-1 é um preditor de mortalidade em pacientes HIV internados.

**Palavras-chave:** HIV, macrófagos, mortalidade, prognóstico, TREM-1.



## ABSTRACT

**Introduction:** The Human Immunodeficiency Virus (HIV) is one of the main causes of morbidity and mortality in the world. Viral reservoirs are the main barrier to achieve a cure for HIV in infected individuals, even in the presence of Antiretroviral Therapy (ART). HIV infected macrophages migrate to various tissues, forming a stable viral reservoir in continuous production. TREM-1 is a myeloid cell protein-1, expressed in monocytes/macrophages and neutrophils, fundamental in the regulation and amplification of inflammation in the immune response. **Objective:** To assess whether the sTREM-1 protein has a predictive value for mortality in HIV/AIDS patients hospitalized for HIV-related causes of hospital admission, in a well-known and reputed hospital in the city of Manaus-AM, Brazil. **Methodology:** A prospective cohort study was carried out in patients hospitalized at the Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT – HVD), with a 28-day segment for predicting mortality. A total of 340 patients who met the eligibility criteria were identified in the study, in which 260 were included. sTREM-1 plasma was quantified by ELISA. To evaluate the correlation between sTREM-1 and mortality prediction in HIV patients, the ROC Curve, Area Under the Curve (AUC) and Poisson Multivariate Regression were calculated. **Results:** From 260 patients included, 81.9% survived and 18.1% died. In the death group, the mean value of sTREM-1 was higher ( $885.9 \pm 197.7$ ) compared to those who survived ( $555.8 \pm 134.3$ ;  $p = 0.0001$ ), with a large magnitude of effect (Cohen's Q) 1.96, for a mean difference of  $392.4 \pm 54.7$  pg/mL (Mann-Whitney test for ranks;  $p < 0.0001$ ). The Area AUC was 0.91 95% CI 0.85 – 0.97 ( $p < 0.0001$ ). The selected cut-off value for high sTREM-1 was 683.8 pg/mL with the best correct classification of cases at 84.23%, sensitivity of 89.36% (95% CI 74.8 – 94.2 %) and specificity 83.10% (95% CI 80.1 – 89.6%). The calculated positive odds ratio (LR+) was 5.28 and negative (LR-) 0.13. Poisson Multivariate Regression was calculated by classifying the serum levels of sTREM-1 in the serum according to the cut-off value (High  $> 683.8$  pg/mL or Low  $< 683.8$  pg/mL), where high sTREM-1 showed the best performance for predicting death with a high Incidence Density Ratio (IRR 16.7,  $p = 0.000$ ). **Conclusion:** In summary, these findings show that sTREM-1 is a predictor of mortality in hospitalized HIV patients.

**Keywords:** HIV, macrophages, mortality, prognosis, TREM-1.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Genoma e proteínas estruturais do HIV-1 .....	21
Figura 2- Ciclo de replicação de HIV e locais de intervenção terapêutica .....	22
Figura 3- Estrutura do complexo TREM-1 /DAP12 .....	28
Figura 4- Delineamento de estudo em coorte prospectivo .....	31
Figura 5- Fluxograma das etapas de elegibilidade da amostra.....	35
Figura 6- Níveis Séricos de TREM-1 Observados na Amostra .....	37
Figura 7- Curva ROC para níveis séricos de TREM-1 e o desfecho primário .....	38
Figura 8- Número de Eventos Preditos conforme Níveis Séricos de TREM-1 .....	39

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Características sociodemográficas e clínicas dos pacientes internados com HIV/AIDS.....	36
Tabela 2-	Frequência das causas de admissão hospitalar relacionadas ao HIV, principais doenças pregressas e coinfeções dos pacientes internados com HIV/AIDS.....	37
Tabela 3-	Modelo de Regressão Multivariada* para desfecho Óbito na População Estudada.....	39

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3TC	Lamivudina
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida Humana
AR	Artrite Reumatoide
AUC	Área Sob a Curva
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
Covid-19	doença do coronavírus 2019
CCR5	Receptor 5 para quimiocina com motivo C-C
CXCR4	Receptor 4 para quimiocina com motivo C-X-C
DAMPs	Padrões Moleculares Associados a Danos
DAP12	Proteína adaptadora DNAX de 12 kDa
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
DCs	Células dendríticas
DTG	Dolutegravir
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
FMT – HVD	Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado
GALT	Tecido linfático trato gastrointestinal
HIV	Vírus da Imunodeficiência Adquirida
IFN	Interferon
IL-6	Interleucina 6
INI	Inibidor de integrase
IP/r	Inibidor de protease com reforço de ritonavir
IRR	Razão de densidade de incidência (Incidence Rate Ratio)
IST	Infecção Sexualmente Transmissível
ITAM	Imunoreceptor com motivo de Ativação baseado em Tirosina

ITRN/ITRNt	Inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo e nucleotídeo
ITRNN	Inibidor da transcriptase reversa não análogo de núcleos(t)ídeo
LPS	Lipopolissacarídeo
MMPs	Metaloproteinases de matriz
miR-155	Micro RNA 155
N	Número de amostra
NACHT-LRR	Proteína 3 contendo os domínios NACHT, LRR e PYD
NK	Célula Exterminadora Natural
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PEP	Profilaxia pós-exposição
PREP	Profilaxia pré-exposição
LR-	Razão de probabilidade negativa
LR+	Razão de probabilidade positiva
LTR	Extremidades em repetições longas
ROC	Características operacionais do receptor
RNA	Ácido Ribonucleico
SARS-CoV-2	Síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2
SNC	Sistema Nervoso Central
sCD14	Proteína solúvel para o antígeno de diferenciação de monócitos CD14
sST2	Supressão solúvel da tumorigenicidade 2
sTREM-1	Forma solúvel do TREM-1
TARV	Terapia Antirretroviral
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDF	Tenofovir
TLRs	Receptores Toll-like
TREM-1	Receptor desencadeante expresso em células mielóides-1
UTI	Unidade de terapia intensiva

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1</b>	<b>Justificativa .....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>18</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral .....</b>	<b>18</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos Específicos .....</b>	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>19</b>
<b>3.1</b>	<b>Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV).....</b>	<b>19</b>
3.1.1	<i>HIV tipo 1 e HIV tipo 2 .....</i>	<i>19</i>
3.1.2	<i>Epidemiologia do HIV tipo 1 e HIV tipo 2 .....</i>	<i>19</i>
3.1.3	<i>Proteínas virais e Genoma do HIV-1.....</i>	<i>20</i>
3.1.4	<i>Disfunção imunológica causado pela infecção do HIV-1 .....</i>	<i>21</i>
3.1.5	<i>Mecanismo de replicação do HIV-1 .....</i>	<i>22</i>
3.1.6	<i>Reservatórios Virais .....</i>	<i>22</i>
3.1.7	<i>Fases do HIV.....</i>	<i>23</i>
3.1.8	<i>Sintomas.....</i>	<i>23</i>
3.1.9	<i>Transmissão do HIV .....</i>	<i>24</i>
3.1.10	<i>Diagnóstico .....</i>	<i>24</i>
3.1.11	<i>Tratamento .....</i>	<i>24</i>
3.1.12	<i>Terapia inicial do HIV.....</i>	<i>25</i>
3.1.13	<i>Prevenção.....</i>	<i>25</i>
<b>3.2</b>	<b>Marcadores biológicos em HIV .....</b>	<b>26</b>
3.2.1	<i>Interleucina-6 (IL-6) e D-dímero.....</i>	<i>26</i>
3.2.2	<i>sCD14 .....</i>	<i>26</i>
3.2.3	<i>MicroRNA-155 (miR-155).....</i>	<i>26</i>
3.2.4	<i>Supressão solúvel da tumorigenicidade 2 (sST2) .....</i>	<i>26</i>
<b>3.3</b>	<b>Receptores TREMs .....</b>	<b>27</b>
3.3.1	<i>TREM-1.....</i>	<i>27</i>
3.3.2	<i>Localização do TREM-1 .....</i>	<i>27</i>
3.3.3	<i>Sinalização do TREM-1 .....</i>	<i>27</i>
3.3.4	<i>Mecanismo de liberação do receptor solúvel sTREM-1.....</i>	<i>28</i>
3.3.5	<i>Funções do TREM-1 .....</i>	<i>29</i>
<b>3.4</b>	<b>TREM-1 como marcador biológico nas doenças .....</b>	<b>29</b>
3.4.1	<i>Artrite Reumatoide (AR) .....</i>	<i>29</i>
3.4.2	<i>Pneumonia .....</i>	<i>30</i>
3.4.3	<i>Vírus da Ebola e vírus Marburg.....</i>	<i>30</i>
3.4.4	<i>Dengue.....</i>	<i>30</i>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
<b>4.1</b>	<b>Delineamento de Estudo .....</b>	<b>31</b>
<b>4.2</b>	<b>Hipótese de Pesquisa.....</b>	<b>31</b>
<b>4.3</b>	<b>Considerações Éticas .....</b>	<b>31</b>
<b>4.4</b>	<b>Crterios de Elegibilidade, Inclusão Exclusão.....</b>	<b>32</b>
<b>4.5</b>	<b>População de Estudo, Recrutamento e Coleta de Dados .....</b>	<b>32</b>

<b>4.6</b>	<b>Desfechos, variáveis preditoras e de confusão .....</b>	<b>33</b>
<b>4.7</b>	<b>Análise Estatística .....</b>	<b>34</b>
4.7.1	<i>Dados Ausentes (Missing Data) .....</i>	34
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>5.1</b>	<b>Resultados .....</b>	<b>35</b>
5.1.1	<i>Caraterísticas dos pacientes.....</i>	36
5.1.2	<i>Níveis Séricos de TREM-1 dos pacientes HIV/AIDS internados.....</i>	37
5.1.3	<i>Análise de Regressão Multivariada para Óbitos e Razão de Densidade de Incidência.....</i>	38
5.1.4	<i>Regressão Multivariada para desfecho Óbito e Eventos Preditos dos níveis do sTREM-1.....</i>	38
<b>5.2</b>	<b>Discussão .....</b>	<b>39</b>
5.2.1	<i>Características clínicas e laboratoriais nos pacientes HIV/AIDS internados .....</i>	39
5.2.2	<i>Relação entre os níveis séricos do sTREM-1 e a mortalidade nos pacientes HIV/AIDS internados.....</i>	40
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>43</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>44</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>51</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é uma infecção que afeta o sistema imunológico, causando a destruição dos linfócitos T CD4<sup>+</sup>, tornando o indivíduo susceptível a complicações e infecções oportunistas. Em 2020 tinham sido identificadas 37,7 milhões de pessoas vivendo com HIV e 680 mil mortes relacionadas ao HIV no mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021).

Desde o início da epidemia da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) em 1980 até 31 de dezembro de 2019, foram notificados no Brasil 349.784 óbitos, dos quais 18.420 (5,3%) na região Norte e 4.683 no estado do Amazonas com o segundo maior número de casos de mortalidade na região, depois do Pará com 9.835, tendo o HIV/AIDS como causa (BRASIL, 2020).

Apesar da implementação de medidas governamentais e sociais para evitar a disseminação, bem como reduzir o número de óbitos relacionados ao HIV/AIDS no Brasil, em 2019, 11 Unidades Federativas (UF) apresentaram um incremento do coeficiente de mortalidade superior ao nacional, que foi de 4,1 óbitos por 100.000 habitantes, onde o estado do Amazonas, teve o quarto (6,4 óbitos/100.000 habitantes) coeficiente de mortalidade mais elevado (BRASIL, 2020).

As resposta imune inata fornece a primeira linha de defesa contra patógenos virais, e o sistema imunológico depende da capacidade das células imunes do hospedeiro para detectar patógenos invasores e alertar as células imunes adaptativas (HYUN et al., 2019). A variação na replicação do HIV proporciona desafios no controle e na eliminação do vírus, mesmo na presença da TARV (Terapia Antirretroviral) (BRENCHLEY et al., 2006; SIMONETTI; KEARNEY, 2015). O HIV causa perturbações significativas no sistema imunológico, e consequente perda progressiva de linfócitos T CD4<sup>+</sup>, culminando com uma ampla gama de anormalidades imunológicas (DEEKS et al., 2015; HYUN et al., 2019).

A ativação de uma resposta imune inata eficaz e equilibrada é um importante determinante na progressão da infecção viral. Os macrófagos humanos infectados pelo HIV apresentam uma expressão aumentada do TREM-1 (YUAN et al., 2017). O receptor solúvel desencadeante expresso em células mielóides-1 (do inglês *Triggering Receptor Expressed in Myeloid Cells-1*) (sTREM-1) provou ser um valioso marcador, uma vez que pode ser facilmente detectado em fluidos biológicos e monitorado nas interações entre diferentes vírus e o hospedeiro, bem como na patogênese viral até o desfecho clínico (ROE; GIBOT; VERMA, 2014).



## 1.1 Justificativa

Alguns estudos têm demonstrado que a concentração sérica do sTREM-1, pode prever a mortalidade de pacientes, como é o caso do estudo realizado em pacientes com sepse, onde Jedynek et al. (2018), demonstraram que o sTREM-1 foi um preditor de mortalidade precoce em pacientes com sepse grave e choque séptico em 28 dias, apesar que a sua capacidade de prever foi considerada baixa em relação aos escores de gravidade clínica da doença. Para além disso, o sTREM-1 pode ser utilizado como um marcador prognóstico para pacientes com sepse, através de redução progressiva da concentração plasmática de sTREM-1 que indica uma evolução clínica favorável ao longo da fase de recuperação da sepse (GIBOT et al., 2005).

Ademais, o sTREM-1 tem sido estudado no prognóstico de diversas doenças virais, onde o aumento de seus níveis séricos tem sido associado com o mau prognóstico clínico da doença (DE OLIVEIRA MATOS et al., 2020). O prognóstico clínico grave e a previsão de mortalidade já foi estudada em Enterovírus A71 (EV-A71) por Amrun et al. (2020) e na Síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2) por NETO et al. (2020), onde o sTREM-1 se mostrou como um marcador biológico na patogênese da infecção grave e na predição de mortalidade, respectivamente. Atualmente existem poucos estudos que abordam o HIV e o sTREM-1. Nas poucas publicações existentes, Yuan et al. (2017) e Campbell; To; Spector, (2019), demonstraram que a ativação do TREM-1 prolonga a sobrevivência de macrófagos infectados. Posteriormente Hyun et al. (2019) relataram que o aumento dos níveis de sTREM-1 está envolvido em respostas imunes aumentadas desencadeadas por HIV. No entanto, ainda não se conhece se a proteína sTREM-1 tem valor preditivo na mortalidade em pacientes HIV.

Em virtude das evidências apresentadas anteriormente, partindo do pressuposto que a alta expressão do sTREM-1 está associada com o maior risco de mortalidade em diferentes infecções virais, torna-se justificável a realização desta pesquisa, visto que se trata de um estudo pioneiro que irá abordar o potencial preditivo da proteína TREM-1 solúvel na mortalidade em pacientes HIV/AIDS internados. Esta pesquisa teve como objetivo principal: avaliar se a proteína sTREM-1 tem valor preditor de mortalidade em pacientes HIV/AIDS internados por causas de admissão hospitalar relacionadas ao HIV.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar se a proteína sTREM-1 tem valor preditor de mortalidade em pacientes HIV/AIDS internados por causas de admissão hospitalar relacionadas ao HIV, em um hospital de referência no município de Manaus-AM, Brasil.

### **2.2 Objetivos Específicos**

1. Identificar as características clínicas e laboratoriais nos pacientes internados por causas relacionadas ao HIV/AIDS;
2. Correlacionar o nível sTREM-1 com a mortalidade nos pacientes internados por causas relacionadas ao HIV/AIDS.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)

HIV é um retrovírus humano com tropismo para células T CD4<sup>+</sup> e monócitos/macrófagos, que induz uma diminuição das contagens de células T CD4<sup>+</sup>, causando disfunção de células T e falta de respostas específicas de anticorpos, culminado com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (CHINEN; SHEARER, 2002). A pessoa é descrita como portadora de AIDS quando a contagem de células CD4<sup>+</sup> é menor 200 células/mm<sup>3</sup> (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020)

##### 3.1.1 HIV tipo 1 e HIV tipo 2

A infecção no HIV-2 resulta em um prognóstico melhor do que a infecção pelo HIV-1, incluindo a progressão tardia para a AIDS, pelo fato do HIV-2 ser menos patogênico para humanos do que o HIV-1, embora ambos os vírus têm mecanismos de transmissão e alvos celulares idênticos, além de se replicarem nas células T de pacientes infectados, somente o HIV-2 se replica eficientemente em células dendríticas (DCs) (LAHAYE et al., 2013). Fazendo uma comparação com a infecção pelo HIV-1, a infecção pelo HIV-2 é caracterizada por taxas de transmissão mais baixas, um estágio assintomático mais longo, um declínio mais lento na contagem de células T CD4<sup>+</sup> e uma menor taxa de mortalidade. A destruição progressiva do sistema imunológico e a AIDS se desenvolvem com facilidade na maioria das pessoas que têm apenas a infecção não tratada com HIV-1, em comparação com apenas 20 a 30% das pessoas infectadas apenas com HIV-2 (MARLINK et al., 2006; TIENEN, 2011).

##### 3.1.2 Epidemiologia do HIV tipo 1 e HIV tipo 2

No HIV-1, três subtipos (HIV-1B, HIV-1C e HIV-1F1) e dois grupos de formas recombinantes (BC e BF) são responsáveis por 99% da infecção no Brasil. O HIV-1B é o mais prevalente, sendo mais predominante nos estados do norte do Amazonas (AM, 91,2%) e Roraima (97,4%). Por sua vez, o HIV-1C foi dominante nos dois estados mais meridionais do Rio Grande do Sul (RS, 44,7%) e Santa Catarina (SC; 66,2%). Também existe uma alta prevalência de HIV-1C no sul do estado do Paraná (PR, 36,8%) e média prevalência (10–15%) no centro-oeste do estado de Mato Grosso do Sul (MS) e norte do estado de Rondônia (RO). Por último o HIV-1F1 encontra-se disperso nos estados brasileiros, sendo responsável por mais de 10% das infecções em quase metade do território (13/27 estados). Dos estados com maior predominância do HIV-1F1,

destacam-se Pernambuco (PE), Minas Gerais (MG) e Espírito Santo (ES), com 23,0%, 19,8% e 19,2% respectivamente (GRÄF et al., 2021).

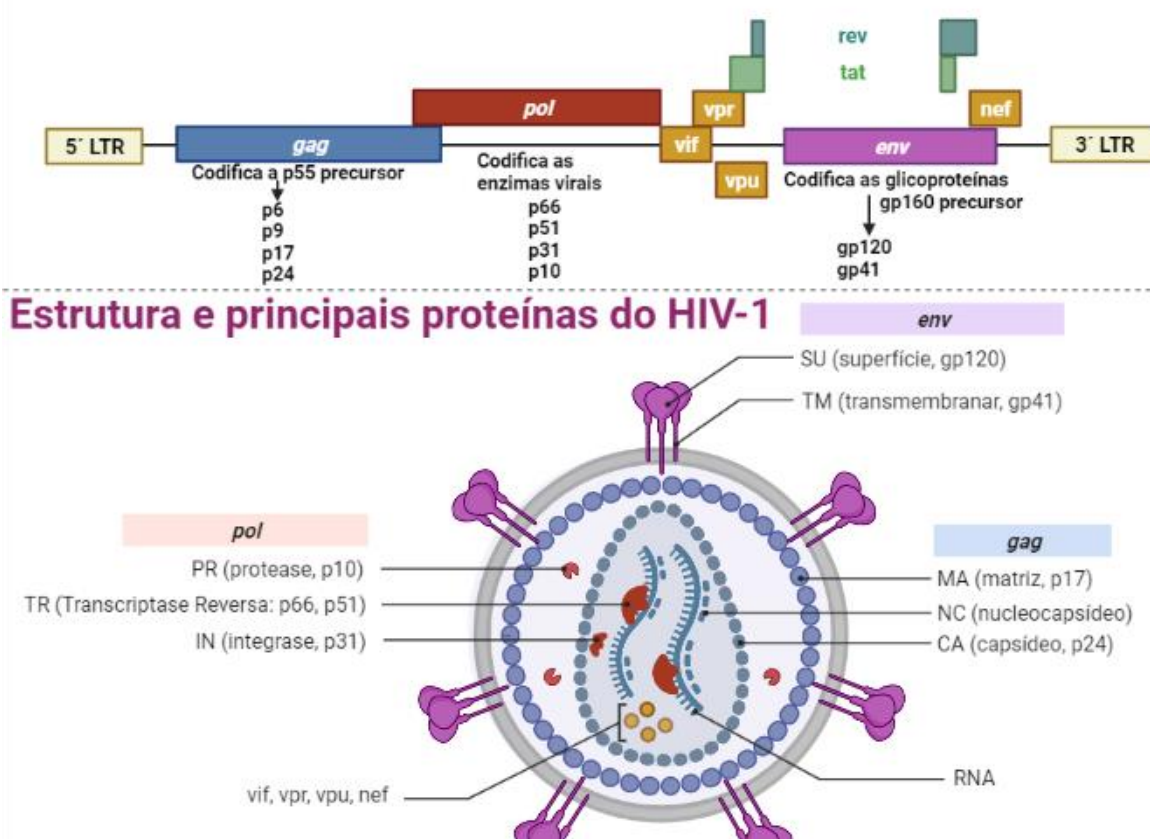
Os dados sobre a epidemiologia recente do HIV-2 no Brasil são escassos, por ser pouco frequente. A infecção por HIV-2 ocorre principalmente na África Ocidental, mas sabe-se que já foram relatados casos de infecção em outras regiões (CAMPBELL-YESUFU; GANDHI, 2011). A prevalência combinada do HIV-1 e HIV-2 no Brasil já foi encontrada em 3% dos pacientes com AIDS (CORTES et al., 1989).

### 3.1.3 Proteínas virais e Genoma do HIV-1

O HIV-1 é um vírus do gênero Lentivírus pertencente à família dos retrovírus, caracterizado por um genoma de Ácido Ribonucleico (RNA), dentro de um capsídeo e um envelope de lipídio, constituído por uma membrana que contém 2 glicoproteínas virais principais, gp41 e gp120 (Figura 1), que medeiam a entrada viral e tem origem da clivagem enzimática da pré-proteína viral gp160. O nucleocapsídeo do HIV-1 é composto por 3 proteínas estruturais, p24, p17 e p9. A proteína p24 forma o capsídeo que envolve 2 fitas de RNA genômica e as enzimas virais. A proteína da matriz gp17 fica na face dentro do envelope. Por sua vez, a proteína p9 compõem o nucleocapsídeo. Para além das proteínas estruturais, o HIV-1 também apresenta seis (6) proteínas reguladoras: Tat, Rev, Nef, Vif, Vpu e Vpr (CHINEN; SHEARER, 2002).

O genoma do HIV-1 apresenta três principais genes que codificam as proteínas estruturais e enzimas virais: *gag*, *pol* e *env* (Figura 1). Sendo o gene estrutural *pol*, que codifica as enzimas p66 e p51, que compõem a enzima transcriptase reversa (RT), essencial para a replicação do HIV-1. O gene *pol*, também codifica a enzima integrase (p31), com função de estabelecer a integração do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) no HIV-1 no genoma do hospedeiro, e a protease (p10), que faz a clivagem de precursores proteicos (ENGELMAN; CHEREPANOV, 2012; FANALES-BELASIO et al., 2010; WATTS et al., 2009).

## Genoma do HIV-1



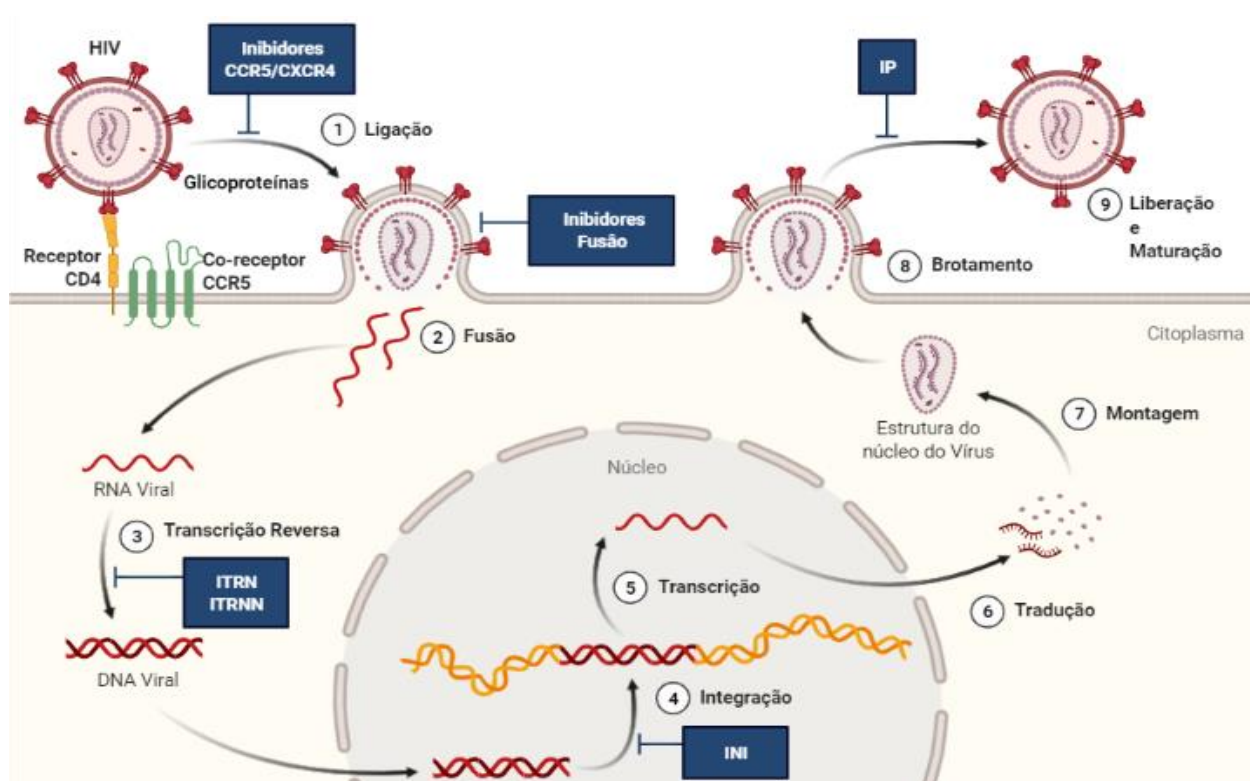
**Figura 1. Genoma e proteínas estruturais do HIV-1.** Composição dos Genes: *gag*, *pol* e *env*; Proteínas reguladoras: Tat, Rev, Nef, Vif, Vpu e Vpr; Proteínas estruturais: p55, p6, p9, p17, p24, p66, p51, p31 e p10; Glicoproteínas virais: gp160, gp120 e gp41; LTR: extremidades em repetições longas. Também se observa a enzima protease (PR), composta pela proteína p10; a enzima transcriptase reversa, composta pelas proteínas: p66 e p51; a enzima integrase, composta pela proteína p31; a matriz, composta pela proteína p17; o capsídeo, composta pela proteína p24. **Fonte:** Criada no Biorender e adaptada de Chinen; Shearer, (2002).

### 3.1.4 Disfunção imunológica causado pela infecção do HIV-1

A infecção por HIV-1 é caracterizada por altos níveis de replicação viral, nos tecidos linfoides, juntamente com depleção maciça de células T CD4<sup>+</sup> de memória no tecido linfático. Ao causar a depleção acentuada dos principais constituintes do sistema imunológico, o HIV-1 destrói e desregula Células T CD4<sup>+</sup>, induzindo também a disfunção imunológica de células T CD8<sup>+</sup>, células B, células natural killer (NK) e células não linfoides, tudo isso, através de mecanismos que incluem a ativação, diferenciação e desregulação da resposta homeostáticas (MOIR; CHUN; FAUCI, 2011).

### 3.1.5 Mecanismo de replicação do HIV-1

Para entender como inicia o mecanismo de replicação do HIV-1 (Figura 2), é necessário compreender como o HIV-1 invade os linfócitos T CD4<sup>+</sup> e monócitos, através do reconhecimento cognato da glicoproteína viral gp120 com a molécula CD4 da superfície celular e um receptor de quimiocinas (CXCR4 ou CCR5), como ilustra a Figura 2 (CHINEN; SHEARER, 2002).



**Figura 2. Ciclo de replicação de HIV e locais de intervenção terapêutica.** Replicação do HIV, onde participam glicoproteínas (gp120 e gp41), receptor CD4 e o correceptor CCR5, além da intervenção terapêutica do inibidor do CCR5 (Receptor 5 para quimiocina com motivo C-C) ou CXCR4 (Receptor 4 para quimiocina com motivo C-X-C), que bloqueia a ligação viral; Inibidor de fusão, que bloqueia a junção do envelope viral com a membrana plasmática da célula; ITRN (Inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo e nucleotídeo) e ITRNN (Inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleos(t)ídeo), que bloqueia a conversão do RNA em DNA; INI (Inibidor de integrase), que bloqueia a integração do DNA viral no hospedeiro; IP (Inibidor de protease), que inibe a multiplicação das proteínas virais. **Fonte:** Criada no Biorender e adaptada de Engelman; Cherepanov, (2012).

### 3.1.6 Reservatórios Virais

Os reservatórios virais são a principal barreira para alcançar a cura do HIV em indivíduos infectados. Os reservatórios podem ser detectados em locais celulares como células T CD4<sup>+</sup> de memória infectadas de vida longa, macrófagos, e em locais anatômicos como GALT, trato genital,

sistema nervoso central (SNC), locais que ficam abrigadas células infetadas na forma latente, que são responsáveis pelo rebote viral após a interrupção da TARV (BANDERA et al., 2019; CAO; WOODROW, 2019; VANSANT et al., 2020). Os fatores que influenciam o tamanho do reservatório viral são: o grau de exposição ao vírus, o período do início da TARV e as características do hospedeiro (ANDRADE; STEVENSON, 2019).

O HIV-1 atinge principalmente células que expressam CD4 e o co-receptor CCR5 ou CXCR4 em sua superfície, após entrada viral envolvendo interação entre os receptores CD4 na membrana e a proteína viral gp120, sendo as células T CD4<sup>+</sup> e macrófagos, potenciais reservatórios do HIV-1 (DIGET et al., 2013; KUMAR; ABBAS; HERBEIN, 2014). As mudanças na estrutura do gp120 permite a interação com o CXCR4 ou CCR5 co-receptores, sendo o último o co-receptor primário usado por cepas de HIV-1 com tropismo para macrófagos (BERGAMASCHI; PANCINO, 2010).

Os monócitos não são alvos primários na infecção pelo HIV-1, mas pode-se encontrar uma pequena quantidade de monócitos que abrigam DNA viral (BERGAMASCHI; PANCINO, 2010; DIGET et al., 2013). As células T CD4<sup>+</sup> são consideradas um dos maiores reservatórios do vírus HIV. As células T CD4<sup>+</sup> latentes que persistem mesmo em situações de terapia regular, não expressam antígenos virais que permitem a sua identificação (BRUEL; SCHWARTZ, 2018). O DNA viral do HIV é detectado principalmente em grandes quantidades nas células T CD4<sup>+</sup> memória central (T<sub>CM</sub>), após sua transição de um estado ativado para um fenótipo de memória em repouso, mais também em outros subconjuntos de células T auxiliares, como células T de memória transicional (T<sub>TM</sub>) e células T de memória efetoras (T<sub>EM</sub>) que mantêm a latência e a persistência por meio da expansão clonal (CASTRO-GONZALEZ; COLOMER-LLUCH; SERRA-MORENO, 2018; KUO; LICHTERFELD, 2018).

### *3.1.7 Fases do HIV*

O vírus do HIV, caracteriza-se por três (3) fases essenciais até o desenvolvimento da AIDS, de entre elas pode-se destacar: uma fase aguda de intensa replicação viral e disseminação para tecidos linfoides; uma fase crônica, muitas vezes assintomática, de ativação imunológica sustentada e replicação viral; e por último uma fase avançada de depleção acentuada de Células T CD4<sup>+</sup> que levam à AIDS (MOIR; CHUN; FAUCI, 2011).

### *3.1.8 Sintomas*

A infecção por HIV, no seu início é assintomática, embora possa apresentar sintomas em alguns casos, como dor de cabeça, dor de garganta e gripe. Os sintomas e sinais podem se concentrar em diversas regiões como por exemplo: pele, SNC e trato gastrointestinal. Geralmente

o indivíduo infectado pode apresentar astenia, anorexia, tosse, dor, febre, tornando cada vez mais evidente os sintomas na medida que existe evolução da infecção (FANTONI et al., 1997). Recentemente, os sintomas físicos mais relatados foram: falta de sono, falta de energia, dor e falta de apetite. E sintomas psicológicos mais frequentes foram preocupação e tristeza (LE DAI et al., 2021).

### *3.1.9 Transmissão do HIV*

As vias de transmissão do HIV têm sido motivo de diversos debates. A transmissão sexual é considerada a via mais comum, que ocorre após a exposição ou manter relação sexuais desprotegidas com alguém que já tenha o vírus. As outras formas de transmissão incluem a transmissão via droga injetável, exposição de sangue e hemoderivados via transfusões, bem como a exposição do feto ou lactente ao HIV de uma mãe infectada (MOIR; CHUN; FAUCI, 2011).

### *3.1.10 Diagnóstico*

O desenvolvimento dos melhores mecanismos de detecção e diagnóstico do HIV fizeram com que se intensificasse cada vez mais a luta contra a AIDS no mundo. O diagnóstico do HIV pode usar testes rápidos que fornecem resultados no mesmo dia, apesar de ser necessário um teste laboratorial para confirmar a infecção. O teste de Ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) utilizado no diagnóstico laboratorial possui quatro gerações, de acordo com os métodos usados, dos quais destacam-se a 3ª e 4ª geração: 3ª geração, permite a identificação simultânea de anticorpos anti-HIV IgM e IgG; 4ª geração, identifica simultaneamente o antígeno p24 e anticorpos específicos anti-HIV, detectando todas as classes de imunoglobulinas contra proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos derivados das glicoproteínas gp41 e gp120. Os testes complementares western blot ou imunoblot, utilizados são menos sensíveis e mais específicos que os imunoenaios de 3ª e 4ª gerações (ALEXANDER, 2016; BOTTONE; BARTLETT, 2017; GUARNER, 2017).

### *3.1.11 Tratamento*

A progressão do HIV para AIDS pode ser interrompida com uso consciente, precoce e regular da TARV (PASSOS et al., 2020). No entanto, a medicação não elimina por completo o vírus do HIV que causa a AIDS, mas evita a debilitação do sistema imunológico que pode ocasionar coinfeções oportunistas (NIESSL et al., 2020). O reservatório latente do HIV é responsável pelo rebote viral plasmático em indivíduos que interrompem o uso da TARV (CHUN; MOIR; FAUCI, 2015). A latência permite que o HIV permaneça não detectado pelo sistema imunológico do hospedeiro (GUPTA, 2019; SIMON; HO; KARIM, 2006). Assim sendo, é recomendável a realização da medicação vitalícia para o controle da carga viral, e consequente



interrupção da evolução viral, de modo a alcançar a supressão do RNA viral plasmático abaixo do nível padrão de detecção (DAVENPORT et al., 2019). Para atingir a supressão do vírus (carga viral < 50 cópias/mL) é necessária uma adesão a TARV maior ou igual a 80% do uso regular de uma determinada linha de terapia TARV (BYRD et al., 2019).

### *3.1.12 Terapia inicial do HIV*

No Brasil o tratamento inicial deve sempre incluir a combinação de três TARV, dos quais dois (2) inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo e nucleotídeo (ITRN/ITRNt) associados a uma classe diferente TARV que pode ser inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo (ITRNN), inibidor de protease com reforço de ritonavir (IP/r) ou inibidor de integrase (INI). Deste modo, tem-se como exemplo: dois ITRN/ITRNt – lamivudina (3TC) + tenofovir (TDF) + um INI – dolutegravir (DTG). Com exceção a indivíduos com coinfeção de tuberculose-HIV, mulheres com diagnóstico de HIV que tenham possibilidade de engravidar e gestantes, bem como em situações intolerância ou contraindicação, onde são indicados outros esquemas iniciais alternativos de tratamento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018b). Após mais ou menos 1 ano de tratamento pode ocorrer a falha virológica, que consiste na incapacidade de atingir ou manter a supressão do vírus, após seis meses do início ou modificação da TARV. Nesses casos, é recomendado a identificação do motivo da falha virológica, com objetivo de desenhar um novo conjunto de TARV (MCCLUSKEY; SIEDNER; MARCONI, 2019).

### *3.1.13 Prevenção*

O maior desafio do século é e continua sendo a eliminação da propagação do HIV através da prevenção. A profilaxia pós-exposição (PEP) e a profilaxia pré-exposição (PrEP) combinadas com outras formas tradicionais de prevenção continuam sendo mecanismos eficazes e seguros na prevenção do HIV (DA FONSECA; BASTOS, 2018). A prevenção combinada consiste na integração de três intervenções com objetivo de evitar a disseminação da infecção do HIV, que são elas: comportamental, biomédica e estrutural (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018c).

PEP baseia-se no uso de medicação para diminuir o risco da infecção ao HIV em casos de exposição dentro de 72 horas ao HIV (SIEDNER; TUMARKIN; BOGOCH, 2018). Geralmente é utilizada em situações que profissionais de área da saúde foram expostos a sangue, e em casos de indivíduos que tenham sofrido violência sexual (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018c). Por sua vez a PrEP baseia-se no uso do TARV para reduzir o risco de infecção ao HIV (CÁCERES et al., 2016).

Para lograr êxitos na prevenção do HIV é necessário a combinação destes mecanismos de prevenção, pois a prevenção isolada não é por si só suficiente para evitar a disseminação do HIV, por isso, o uso de medidas combinadas tais como: testar regularmente pacientes; sexo seguro com

o uso de preservativo; evitar a transmissão vertical; tratar infecções sexualmente transmissíveis (IST); introdução e consolidação dos projetos de redução de danos para substâncias psicoativas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018d).

### 3.2 Marcadores biológicos em HIV

Marcador biológico (biomarcador) é uma característica que é objetivamente medida e avaliada como um indicador de processos biológicos que podem ser normais, patogênicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica, podendo prever ou prever algo (ATKINSON et al., 2001).

#### 3.2.1 *Interleucina-6 (IL-6) e D-dímero*

IL-6 e D-dímero são marcadores biológicos com alta reprodutibilidade biológica e laboratorial, sendo um marcador inflamatório e o outro marcador de coagulação, respectivamente. A ativação da inflamação e coagulação induzida pelo HIV aumenta o risco de morte entre pacientes HIV-positivos, e a interrupção da TARV aumenta ainda mais esse risco, possivelmente aumentando os níveis de IL-6 e D-dímero, o que demonstra que os marcadores biológicos IL-6 e D-dímero estão fortemente ligados com a mortalidade em pacientes HIV. O desenvolvimento de terapias que reduzem o efeito da replicação do HIV sobre a inflamação e a coagulação sanguínea, ou que reduzem os níveis de IL-6 e D-dímero, podem prolongar a expectativa de vida das pessoas HIV-positivas (KULLER et al., 2008).

#### 3.2.2 *sCD14*

O biomarcador sCD14 é um marcador biológico da resposta de monócitos, estimulado por diferentes induções biológicas, como a IL-6 e o lipopolissacarídeo (LPS), atuando como um preditor independente na progressão da doença e na mortalidade na infecção pelo HIV. Sendo que na infecção do HIV está associada à permeabilidade intestinal e à translocação microbiana que contribui para a ativação imune sistêmica (SANDLER et al., 2011).

#### 3.2.3 *MicroRNA-155 (miR-155)*

O miR-155 é um micro RNA emergente (miRNA) que regula a resposta imune, e pode ser utilizado com um potencial alvo terapêutico e um ótimo biomarcador na infecção pelo HIV-1, modulando a resposta imune em pacientes infectados pelo HIV-1 (JIN et al., 2017).

#### 3.2.4 *Supressão solúvel da tumorigenicidade 2 (sST2)*

O sST2 é um novo biomarcador valioso para avaliar o risco de mortalidade por todas as causas na infecção pelo HIV, sendo um marcador preditivo que poderia ser proposto para estudar o prognóstico clínico e o risco de morte por doenças associadas ao HIV (THIÉBAUT et al., 2017).

### 3.3 Receptores TREMs

Os receptores TREMs (TREM-1, TREM-2, TREM-3) fazem parte da superfamília de proteínas domínio variável imunoglobulina (IgV), sendo considerados receptores de ativação da superfície celular na região transmembrana contendo resíduos de lisina carregada e uma cauda citoplasmática curta (BOUCHON; DIETRICH; COLONNA, 2000; KLESNEY-TAIT; TURNBULL; COLONNA, 2006).

#### 3.3.1 *TREM-1*

O receptor desencadeante expresso em células mielóides-1 denominado TREM-1 é um importante receptor imune inato, que age para iniciar a inflamação ou para amplificar as respostas inflamatórias por meio de associação cruzada dos receptores padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), incluindo os receptores Toll-like (TLRs) e/ou oligomerização de ligação a nucleotídeos receptores do tipo (NOD). O TREM-1 tem sido associado a doenças infecciosas e condições inflamatórias crônicas, sendo relacionado muitas das vezes na gravidade e progressão destas doenças (GAO et al., 2019).

#### 3.3.2 *Localização do TREM-1*

O gene que codifica o TREM-1 é localizado no cromossomo humano 6p21 e camundongo no cromossomo 17C3, sendo considerado um membro da superfamília de imunoglobulina de 30 kD (GAO et al., 2019; KELKER; DEBLER; WILSON, 2004). O TREM-1 é expresso em diversas células, sendo encontrado nas células imunes inatas, como granulócitos, monócitos e macrófagos, e é regulado positivamente pelo LPS (BOUCHON; DIETRICH; COLONNA, 2000; HE et al., 2019).

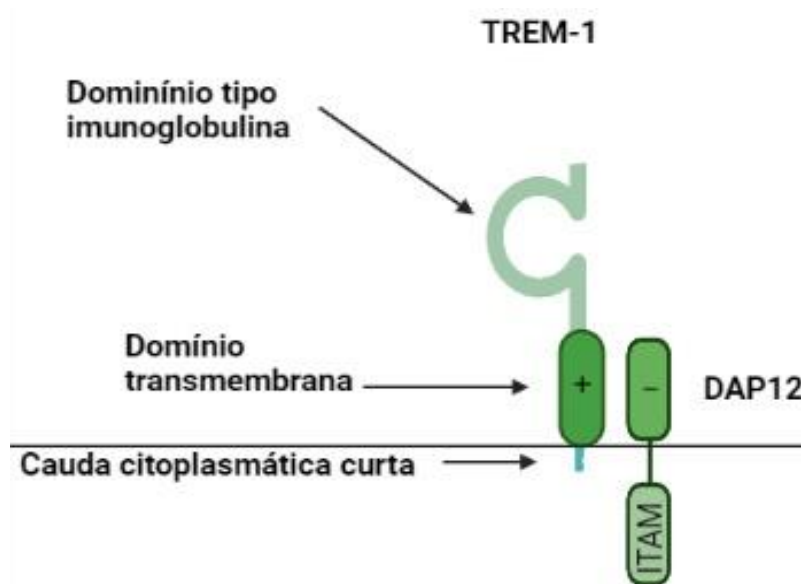
#### 3.3.3 *Sinalização do TREM-1*

Existem vários TREMs (TREM-1, TREM-2, TREM-3) que se associam fisicamente à cadeia de sinalização da Proteína Adaptadora DNAX de 12 kDa (DAP12), que contém um Imunoreceptor com motivo de Ativação baseado em Tirosina (ITAM).

O processo de ativação da sinalização do TREM-1 é iniciado por ligantes externos como LPS, PAMPs e Padrões Moleculares Associados a Danos (DAMPs) ao receptor, que vão estimular o TREM-1, desencadeando a associação e fosforilação do imunoreceptor ITAM da proteína DAP12, que culmina nos eventos nucleares (ROE; GIBOT; VERMA, 2014).

O TREM-1 é constituído por um domínio tipo imunoglobulina (IgV), um domínio transmembrana e uma cauda citoplasmática curta (Figura 3). O domínio transmembrana é carregado positivamente, o que permite mediar a formação de um complexo com o adaptador de

sinalização DAP12 (carregado negativamente), um componente importante para a expressão e sinalização do TREM-1 (KLESNEY-TAIT; TURNBULL; COLONNA, 2006).



**Figura 3. Estrutura do complexo TREM-1 /DAP12.** Constituição do TREM-1: domínio transmembrana (carregado positivamente); DAP 12: Proteína Adaptadora DNAX de 12 kDa (carregado negativamente); ITAM: Imunoreceptor com motivo de Ativação baseado em Tirosina. **Fonte:** Criada no Biorender e adaptada de Klesney-Tait; Turnbull; Colonna, (2006).

### 3.3.4 Mecanismo de liberação do receptor solúvel *sTREM-1*

A forma solúvel de TREM-1 (*sTREM-1*) é um peptídeo glicosilado de 27 kDa, detectável em fluidos biológicos e tecidos em resposta a agressão do agente infeccioso (GIBOT et al., 2004). O *sTREM-1* é detectado em altas concentrações apenas no soro do paciente e em fluidos biológicos de pacientes com infecções (KLESNEY-TAIT; TURNBULL; COLONNA, 2006). Vários pesquisadores tentam explicar a origem do *sTREM-1*, sendo que existem dois mecanismos propostos.

O primeiro mecanismo envolve a tradução de uma variante alternativa de splicing de mRNA que codifica uma proteína que não possui a região transmembrana e a cauda citoplasmática e é secretada diretamente no ambiente extracelular de dentro da célula (GAO et al., 2019; GINGRAS; LAPILLONNE; MARGOLIN, 2002). Segunda teoria, supõe-se que é produzido pela clivagem do ectodomínio extracelular da forma ligada à membrana pelas metaloproteinases da matriz (GÓMEZ-PIÑA et al., 2007).

### 3.3.5 Funções do TREM-1

O TREM-1 desempenha um papel indispensável na regulação e ampliação da inflamação da resposta imune, sendo um elo de ligação entre a imunidade inata e a imunidade adaptativa (HE et al., 2019). Vários estudos têm sido desenvolvidos para identificar o papel do TREM-1 solúvel nas diferentes doenças infecciosas, onde tem sido frequentemente associado a ampliação da inflamação. Ademais, alguns estudos demonstram o seu potencial na previsão de gravidade clínica e mortalidade, além da possibilidade de ser um marcador biológico para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para o controle da infecção, atuando como bloqueador e regulador, desse modo, influenciando o desfecho clínico (ROE; GIBOT; VERMA, 2014).

## 3.4 TREM-1 como marcador biológico nas doenças

A amplificação excessiva da resposta inflamatória mediada pelo TREM-1 pode levar instabilidade hemodinâmica, falência de órgãos ou morte. Os níveis de proteína TREM-1 e a sua forma solúvel (sTREM-1) são úteis em diversas doenças. Níveis consideráveis de sTREM-1 foram encontrados em várias doenças como por exemplo na sepse, dengue, pneumonia e artrite reumatoide (PELHAM; AGRAWAL, 2014).

### 3.4.1 Artrite Reumatoide (AR)

A AR é uma doença autoimune crônica com síndrome de dor, rigidez e inflamação da membrana sinovial de articulações que levam à destruição articular, declínio funcional e comorbidades substanciais nos aspectos cardiovascular, neurológico e sistemas metabólicos (BRENNAN; MCINNES, 2008).

Os Pacientes com AR apresentam níveis sTREM-1 mais altos no plasma, o que pode indicar atividade da doença em relação aos controles saudáveis, e os níveis sTREM-1 em pacientes com AR são associados às medidas de atividade da doença, sugerindo que sTREM-1 no plasma poderia ter um papel importante na progressão inflamatória. Assim, a inibição da atividade do sTREM-1 pode ter um efeito terapêutico na AR (KUI et al., 2009). Além disso, o sTREM-1 é altamente expresso em células CD14<sup>+</sup> em AR crônica e em modelos animais, correlacionando-se com uma produção aumentada de citocinas inflamatórias sugerindo que o bloqueio dessa via pode ser um local importante para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas na AR, razão pela qual, o sTREM-1 é considerado um biomarcador para a atividade da AR e o diagnóstico precoce da AR (MOLAD et al., 2015).

### 3.4.2 *Pneumonia*

Os níveis de sTREM-1 estão elevados no lavado broncoalveolar de pacientes com pneumonia, razão pela qual, a detecção rápida de sTREM-1 no lavado broncoalveolar pode ser útil para confirmar ou excluir o diagnóstico de pneumonia bacteriana ou fúngica, tornado um biomarcador indispensável na pneumonia (GIBOT et al., 2004).

### 3.4.3 *Vírus da Ebola e vírus Marburg*

Vírus da Ebola e vírus Marburg são vírus caracterizados por febre hemorrágica aguda. Estes ativam o sTREM-1 em neutrófilos humanos, resultando em fosforilação de DAP12, liberação de sTREM-1, mobilização de cálcio intracelular, secreção de citocinas pró-inflamatórias e alterações fenotípicas. Assim, um peptídeo específico para TREM-1 diminuiu a liberação de fator de necrose tumoral alfa por neutrófilos humanos ativados por filovírus *in vitro*, e sTREM-1 recombinante solúvel inibi competitivamente a perda de TREM-1 na superfície celular que de outro modo ocorreu em neutrófilos expostos a filovírus (MOHAMADZADEH et al., 2006).

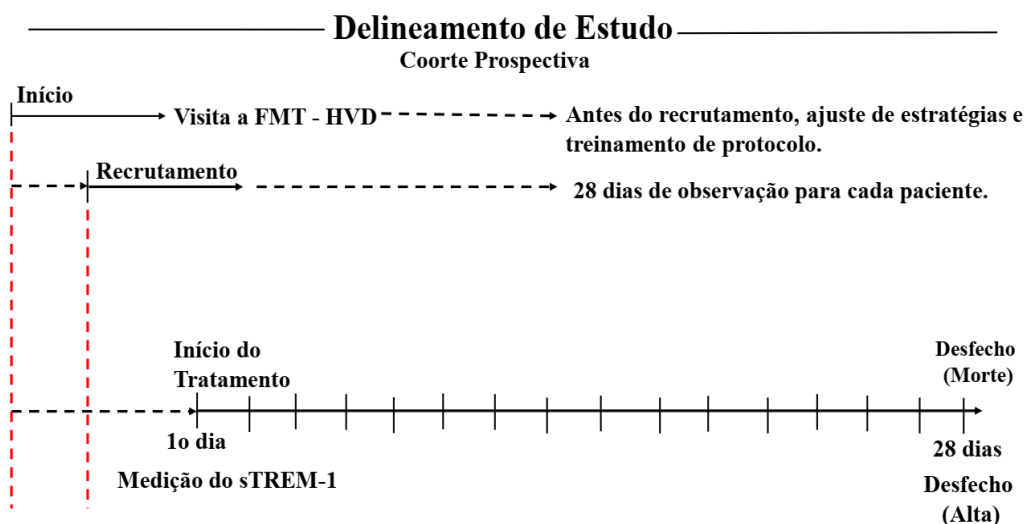
### 3.4.4 *Dengue*

A infecção viral por dengue causa a produção descontrolada e complexa de fatores inflamatórios. Os pacientes infectados com o vírus da dengue exibiram níveis significativamente mais altos de sTREM-1 no estágio inicial da infecção. Esses achados destacam o processo dinâmico da expressão do sTREM-1 durante a infecção pelo vírus da dengue como um potencial biomarcador de diagnóstico (RUIZ-PACHECO et al., 2014).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Delineamento de Estudo

Realizou-se um estudo observacional de coorte prospectivo, num período de observação de 28 dias, como ilustra a Figura 4. Esta pesquisa segue todas as diretrizes dos estudos STROBE (The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: guidelines for reporting observational studies) para estudos observacionais (ELM et al., 2008).



**Figura 4. Delineamento de estudo em coorte prospectivo.** No início foi realizada uma visita para ajustar as estratégias de recrutamento e protocolo da coleta de dados. No primeiro dia de internação, realizou-se a coleta do sangue, que serviu para a medição única do sTREM-1 em cada paciente, tendo posteriormente realizado o acompanhamento até o desfecho clínico.

### 4.2 Hipótese de Pesquisa

Pressupõe-se como hipótese que os níveis séricos altos do TREM-1 solúvel estão relacionados com maior risco de mortalidade em pacientes HIV/AIDS internados por causas de admissão hospitalar relacionadas ao HIV.

### 4.3 Considerações Éticas

A pesquisa foi aprovada e autorizada pela Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT – HVD) com o número de parecer do CEP 2.772.107, conforme ilustra o ANEXO A.

Esta pesquisa faz parte dum projeto maior denominado Programa Nacional de Cooperação Acadêmica na Amazônia (PROCAD), que visa o fortalecimento de rede de cooperação interinstitucional em pesquisa entre Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPG-CIS), da Universidade Federal do Amazonas (UFAM – AM), Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI/Fiocruz – RJ) e Programa de Pós-Graduação em Biologia da Interação Patógeno - Hospedeiro (PPGBIO-Interação), do Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD/ Fiocruz – AM), com o título: “Parâmetros clínicos e laboratoriais como preditores de óbito em pacientes HIV/AIDS internados”. Os participantes incluídos no estudo, receberam informações sobre a finalidade do estudo, e aqueles que aceitaram participar, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

#### **4.4 Critérios de Elegibilidade, Inclusão Exclusão**

Foram elegíveis para o estudo, pacientes internados com diagnóstico de HIV/AIDS na FMT – HVD, de qualquer procedência, maiores de 18 anos.

Foram incluídos no estudo pacientes de qualquer procedência, maiores de 18 anos, portadores de HIV/AIDS com comprovação sorológica, internados em enfermaria e unidade de terapia intensiva (UTI) da FMT – HVD, por causas de admissão hospitalar relacionadas ao HIV, no período de fevereiro de 2019 a maio de 2021, os quais consentiram em participar através da assinatura do TCLE. Além disso, foram incluídos todos os casos de óbitos de pacientes internados por causas de admissão hospitalar relacionadas ao HIV.

Foram excluídos pacientes portadores do HIV, maiores de 18 anos, que internaram por causas de admissão hospitalar não relacionadas ao HIV, como acidentes, fraturas, traumas e pacientes com dados incompletos.

#### **4.5 População de Estudo, Recrutamento e Coleta de Dados**

A população do estudo foi constituída por pacientes com comprovação sorológica de HIV/AIDS, maiores de 18 anos, internados em enfermaria e unidade de terapia intensiva (UTI) na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT – HVD), por causas relacionadas ao HIV, no município de Manaus, estado do Amazonas.

O recrutamento decorreu no período entre março de 2019 a maio de 2021. Os pacientes recrutados para a pesquisa foram diariamente identificados nas enfermarias da FMT-HVD. Após a aplicação dos critérios de elegibilidade, foi solicitada a autorização dos pacientes ou de seus



responsáveis, formalizada mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Após autorização, foram registrados os dados obtidos a partir de prontuário eletrônico (sistema interno de prontuários iDoctor) e físico (fichas de controles de parâmetros vitais).

Além disso, foram explicados aos pacientes ou responsáveis todos os procedimentos adotados durante o estudo, a respeito das coletas de dosagens séricas laboratoriais e dados coletados em prontuários físicos e eletrônicos. Durante o recrutamento, foram coletados os seguintes dados: características sociodemográficas, causa de admissão hospitalar, uso da terapia antirretroviral (TARV), presença ou ausência de doença pregressa, presença ou ausência de coinfeção, e a coleta de sangue, onde determinou-se a carga viral, o número CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> no sangue, e o acompanhamento do paciente durante 28 dias de internação. Nos indivíduos incluídos no estudo, foram coletadas amostras de sangue em tubos de 10mL com tampa amarela sem anticoagulante e os soros foram separados por centrifugação, sendo armazenados em freezer -80°C até as análises. A quantificação da proteína sTREM-1 foi realizada utilizando-se TREM-1 Human ELISA kit (Thermofisher, USA), seguindo-se as instruções do fabricante (ANEXO B). Os testes foram realizados em leituras únicas, onde cada leitura representa um indivíduo da amostra.

Para a identificação dos agentes infecciosos, foi utilizado os métodos sorológicos (Citomegalovírus, herpesvírus e *Toxoplasma gondii*) e métodos morfológicos pela microbiológica clássica a partir do lavado bronquioalveolar, para isolamento bacteriano, fúngico e parasitário, para etiologias comuns de coinfeções dos pacientes. Utilizou-se também a Reação em cadeia da polimerase (PCR) para a identificação de infecções por *Mycobacterium tuberculosis*.

No período da pandemia da doença do coronavírus 2019 (Covid-19), foram respeitados todos os protocolos sanitários de modo a não expor os pacientes e nem os pesquisadores a qualquer infecção.

#### **4.6 Desfechos, variáveis preditoras e de confusão**

O desfecho clínico primário deste estudo é óbito/alta, num período de observação de 28 dias para cada paciente internado. Foi considerado como variável preditora os níveis sérios do sTREM-1. Os pacientes incluídos foram divididos em 2 grupos, primeiro grupo de exposição: pacientes com os níveis séricos elevados do sTREM-1, e o segundo grupo controle: pacientes com baixos níveis séricos do sTREM-1. As variáveis de confusão: idade; causa de admissão hospitalar, tempo de internação; coinfeção; doença pregressa; TARV, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> e carga viral.

## 4.7 Análise Estatística

Para descrever as características da amostra dos pacientes utilizou-se a estatística descritiva, que foi expressa em frequências absolutas (N) e relativas (%) para variáveis categóricas (sexo, causas de admissão hospitalar, doença progressa, coinfeção e uso de TARV), e para variáveis contínuas numéricas (idade, tempo de internação) em média  $\pm$  desvio padrão (DP), e variáveis laboratoriais (carga viral, CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>) em mediana e quartis (25% e 75%). O Teste T de Student (ou equivalente não paramétrico) foram utilizados para comparar médias. Foi aplicado o teste exato de Fisher para comparação de frequências. A significância estatística foi definida quando  $p < 0,05$ .

Uma curva ROC foi calculada para selecionar o valor de corte (cut-off value) de sensibilidade e especificidade para melhor valor de sTREM-1 com objetivo de classificar pacientes como sendo alto TREM-1 (acima do valor de cut-off) ou baixo TREM-1 (abaixo do valor de cut-off). Foram calculadas Área Sob a Curva (AUC), sensibilidade, especificidade, razão de probabilidade positiva e negativa (LR<sup>+</sup>, LR<sup>-</sup>) e percentual de indivíduos classificados corretamente para evento óbito.

Foi realizada análise multivariada aplicando-se Regressão de Poisson com variância robusta, ajustando-se à razão de densidade de incidência (Incidence Rate Ratio, IRR) de óbitos por sexo, idade, uso de terapia antirretroviral, carga viral, contagem de células CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, classificando-se pacientes como sTREM-1 alto ou baixo. As análises foram realizadas com Software STATA 15 (Stata Corp, USA). As figuras foram elaboradas utilizando o Software Graphad Prism 9.1.

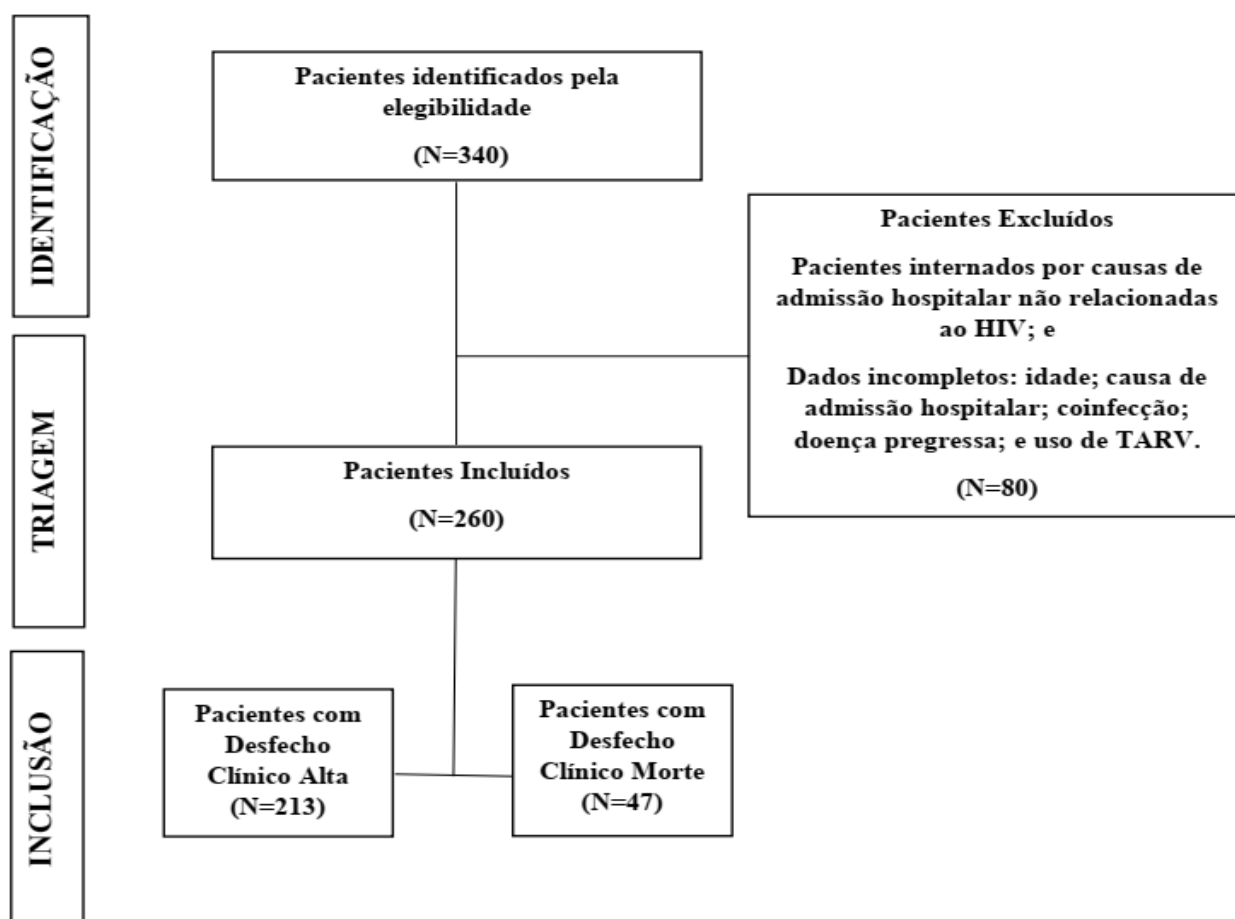
### 4.7.1 Dados Ausentes (*Missing Data*)

Foi apenas realizada a análise de dados completos, os dados ausentes foram considerados como Perda Completamente ao Acaso (PERKINS et al., 2018).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Resultados

Foram identificados no estudo um total de 340 pacientes internados com HIV/AIDS, que atendiam aos critérios de elegibilidade da pesquisa. Dos 340 pacientes, 80 foram excluídos por terem internado por causas de admissão hospitalar não relacionadas ao HIV, e por não forneceram dados importantes para realização desta pesquisa, tais como: 1) idade; 2) causas de admissão hospitalar; 3) presença ou ausência de coinfeção; 4) presença ou ausência de doença pregressa; e 5) uso ou não de TARV. Sendo assim, foram incluídos no estudo um total de 260 pacientes com dados completos, dos quais 81,9% (N=213) com desfecho de alta e 18,1% (N=47) com desfecho de óbito (Figura 5).



**Figura 5. Fluxograma das etapas de elegibilidade da amostra.** Na elegibilidade foram identificados 340 pacientes. Após a triagem, bem como a aplicação dos critérios de exclusão (pacientes internados por causas de admissão hospitalar não relacionadas ao HIV e pacientes com dados incompletos) e inclusão (pacientes com causas de admissão hospitalar relacionadas ao HIV), foram incluídos 260 pacientes, dos quais 213 com desfecho alta e 47 com desfecho óbito.

### 5.1.1 Características dos pacientes

A Tabela 1 apresenta as características sociodemográficas e clínicas dos pacientes com HIV/AIDS internados, agrupado em dois grupos: desfecho clínico alta (81,9%) e desfecho clínico óbito (18,1%). A maior parte dos pacientes eram do sexo masculino em ambos os grupos, com 76,6% em pacientes com desfecho óbito e 74,6% para desfecho alta. A idade média foi maior em pacientes desfecho óbito com 38 anos ( $\pm 13$ ), em relação a desfecho alta 35 anos ( $\pm 9$ ). A doença progressa foi maior em pacientes com o desfecho alta (44,6%) e para óbito (27,7%). A coinfeção foi maior em pacientes com desfecho alta (70%), em relação a óbito (63,8%). A média do tempo de internação foi maior em desfecho alta com 26 dias ( $\pm 44$ ), em relação a desfecho óbito 23 dias ( $\pm 53$ ). Em relação ao uso de TARV, constatou-se que a maior parte (57,7%) com desfecho alta faziam uso contínuo, e 36,2% com desfecho óbito eram virgens de tratamento. A mediana do número de CD4<sup>+</sup> foi maior em pacientes que tiveram alta com 128 células/mm<sup>3</sup>, em relação a óbito 55 células/mm<sup>3</sup>. A mediana do número de CD8<sup>+</sup> foi maior em pacientes desfecho alta com 634 células/mm<sup>3</sup>, em relação a óbito 390 células/mm<sup>3</sup>. A mediana do número de carga viral foi maior em óbito com 233.934 cópias/mL, em relação a pacientes alta 42.846 cópias/mL.

**Tabela 1. Características sociodemográficas e clínicas dos pacientes HIV/AIDS (N=260)**

Variável	Desfecho Clínico Alta (N=213; 81,9%)	Desfecho Clínico Óbito (N=47; 18,1%)	Valor p
<b>Sexo<sup>a</sup></b>			
Masculino	159 (74,6)	36 (76,6)	0,717
Feminino	54 (25,4)	11 (23,4)	
<b>Idade<sup>b</sup></b>	35,03 $\pm$ 9,09	38,23 $\pm$ 13,26	0,047
<b>Doença progressa, N (%)<sup>a</sup></b>	95 (44,6)	13 (27,7)	0,043
<b>Coinfeção, N (%)<sup>a</sup></b>	149 (70,0)	30 (63,8)	0,491
<b>Tempo de internação<sup>b</sup></b>	26,05 $\pm$ 44,11	23,53 $\pm$ 53,29	0,990
<b>Uso de TARV, N (%)<sup>a</sup></b>			
Uso contínuo	123 (57,7)	14 (29,8)	0,001
Virgem de tratamento	31 (14,6)	17 (36,2)	0,000
Uso descontinuo	37 (17,4)	7 (14,9)	0,000
Nunca aderiu	15 (7,0)	4 (8,5)	0,830
Abandono	7 (3,3)	5 (10,6)	0,046
<b>CD4<sup>+c</sup></b>	128 (52,5 – 232)	55 (22 – 159)	0,004
<b>CD8<sup>+c</sup></b>	634 (349 - 1029)	390 (300 - 612)	0,033
<b>Carga Viral<sup>c</sup></b>	42.846 (1.501 – 246.494)	233.934 (37.951 – 725.509)	0,003

**Legenda:** N: Número de amostra; %: Percentagem da amostra; DP: Desvio padrão; TARV: Terapia Antirretroviral. <sup>a</sup>Teste Exato de Fisher, <sup>b</sup>Resultados expressos como média e desvio padrão, <sup>c</sup>Resultados expressos como mediana e quartis 25% e 75%.

Em relação as principais causas de admissão hospitalar, constatou-se que pouco mais da metade dos pacientes (54,6%) apresentavam Síndrome Respiratória, seguido de (32,7%) com Síndrome Neurológica (Tabela 2). A maior parte dos pacientes apresentaram Tuberculose como doença progressa (26,2%) e coinfeção (31,9%).

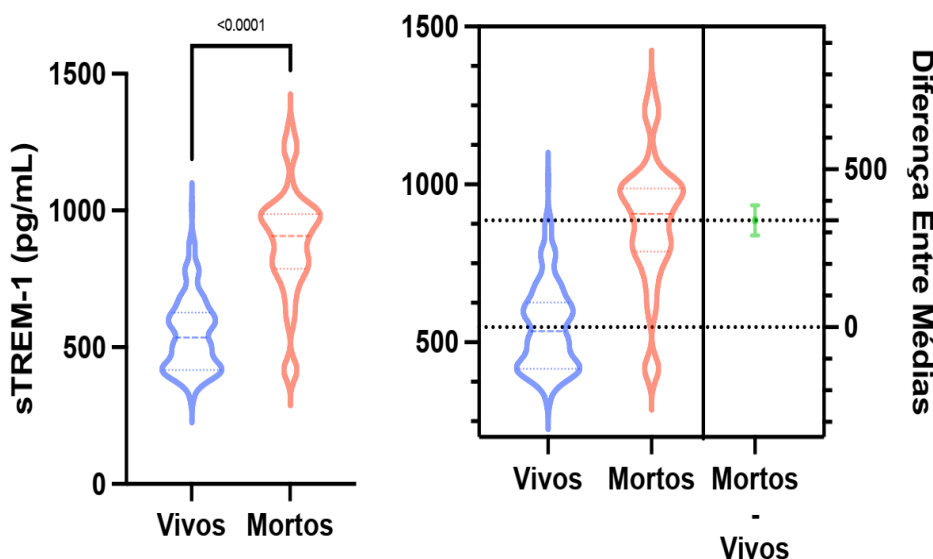
**Tabela 2. Frequência das causas de admissão hospitalar relacionadas ao HIV, principais doenças progressas e coinfeções dos pacientes internados com HIV/AIDS (N=260)**

Variável	Sim N (%)	Não N (%)
<b>Causas da Admissão Hospitalar</b>		
Síndrome Respiratória	142 (54,6)	118 (45,4)
Síndrome Neurológica	85 (32,7)	175 (67,3)
Outras causas de admissão relacionadas ao HIV	75 (28,8)	185 (71,2)
<b>Doenças Progressas</b>		
Tuberculose	68 (26,2)	192 (73,8)
Toxoplasmose	22 (8,5)	238 (91,5)
Pneumocistose	6 (2,3)	254 (97,7)
Monilíase esofagiana	6 (2,3)	254 (97,7)
Outras doenças progressas	15 (5,8)	245 (94,2)
<b>Coinfeção</b>		
Tuberculose	83 (31,9)	177 (68,1)
Toxoplasmose	42 (16,2)	218 (83,8)
Monilíase esofagiana	35 (13,5)	225 (86,5)
Pneumonia Bacteriana	15 (5,8)	245 (94,2)
Outras coinfeções	40 (15,4)	220 (84,6)

**Legenda:** N: número de amostra; %: percentagem da amostra.

### 5.1.2 Níveis Séricos de TREM-1 dos pacientes HIV/AIDS internados

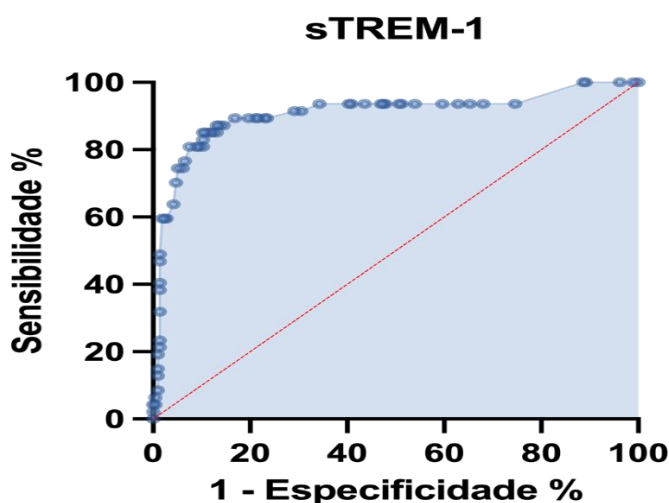
Na Figura 6, observa-se que o valor médio de sTREM-1 foi maior nos pacientes que foram a óbito ( $885,9 \pm 197,7$ ) comparados aos que sobreviveram ( $555,8 \pm 134,3$ ;  $p = 0,0001$ ), com grande magnitude de efeito (Cohen's Q) 1,96, para uma diferença média de  $392,4 \pm 54,7$  pg/mL.



**Figura 6. Níveis Séricos de sTREM-1 Observados na Amostra.** A esquerda o gráfico de violino e a direita o de estimativa, que demonstram os níveis de sTREM-1 elevados em óbitos em comparação aos sobreviventes, bem como a diferença entre as médias, por teste Mann-Whitney para ranks ( $p < 0.0001$ ), resultados não ajustados.

### 5.1.3 Análise de Regressão Multivariada para Óbitos e Razão de Densidade de Incidência

A Área Sob a Curva (AUC) calculada foi 0.91 IC 95% 0.85 – 0.97 ( $p < 0.0001$ ). Este valor de AUC para ROC demonstrou que os níveis séricos de sTREM-1 têm excelente habilidade de discriminação para evento óbito em pacientes internados com HIV/AIDS (Figura 7). O Valor de cut-off selecionado para sTREM-1 alto foi 683,8pg/mL com a melhor classificação correta de casos em 84,23%, sensibilidade de 89,36% (IC 95% 74,8 – 94,2%) e especificidade 83,10% (IC 95% 80,1 – 89,6%). A razão de probabilidade positiva (LR+) calculada foi 5,28 e negativa (LR-) de 0,13.



**Figura 7. Curva ROC para níveis séricos de sTREM-1 e o desfecho primário.** Os níveis séricos de sTREM-1 têm excelente habilidade de discriminação para evento óbito em pacientes HIV internados, sendo a melhor classificação correta de casos em 84,23%, sensibilidade de 89,36% (IC 95% 74,8 – 94,2%) e especificidade 83,10% (IC 95% 80,1 – 89,6%).

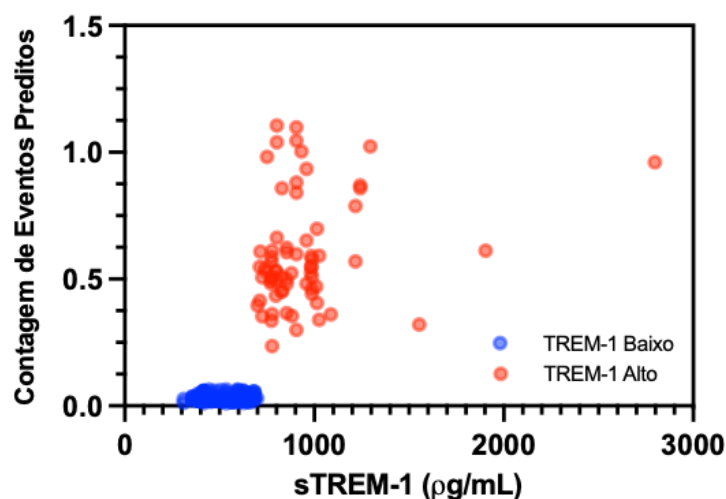
### 5.1.4 Regressão Multivariada para desfecho Óbito e Eventos Preditos dos níveis do sTREM-1

A Regressão Multivariada de Poisson foi calculada classificando pelos níveis séricos de sTREM-1 no soro conforme valor cut-off (Alto > 683,8pg/mL ou Baixo <683,8pg/mL), como ilustra a Tabela 3. Alto sTREM-1 se mostrou melhor com melhor performance para predição de óbito com alta razão de Densidade de Incidência (IRR 16.7,  $p = 0,000$ ), mesmo ajustando-se para covariáveis sexo, idade, carga viral, contagens de células CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>. O uso de TARV está associado a redução de Densidade de Incidência na população estudada (IRR 0.58,  $p = 0,005$ ). A Figura 8 mostra a distribuição de eventos preditos ajustados.

**Tabela 3. Modelo de Regressão Multivariada\* para desfecho Óbito na População Estudada**

Variável	IRR** (Intervalo de Confiança 95%)	Erro Padrão (Robusto)	p-valor
Constante do Modelo	0.03 (0.01 – 0.11)	0.02	0.000
Sexo (Homem)	1.24 (0.77 – 1.98)	0.30	0.379
Idade	1.00 (0.98 – 1.02)	0.01	0.469
Contagem Células CD4 <sup>+</sup>	1.00 (0.99 – 1.04)	0.00	0.173
Contagem Células CD8 <sup>+</sup>	1.00 (0.99 – 1.00)	0.00	0.606
Carga Viral	1.06 (0.84 – 1.35)	0.13	0.611
Em uso de TARV (sim, não)	0.58 (0.40 – 0.85)	0.11	0.005
TREM-1 Alto (sim, não)	16.7 (7.45 – 37.6)	6.91	0.000

**Legenda:** \*  $p$ -valor do Modelo < 0.000, Ajuste de qualidade de desvio (do inglês Deviance Goodness-of-fit) 78.42,  $p = 1.00$ , Ajuste de qualidade de Pearson (do inglês Pearson Goodness-of-fit) 214.31,  $p = 0.96$ . Critérios de informação de Akaike (do inglês Akaike Information Criteria) (AIC) 188,42, Critérios de informação Bayesiana (do inglês Bayesian Information Criteria (BIC) 216,91. \*\*Razão de densidade de incidência (do inglês Incidence Rate Ratio).



**Figura 8. Número de Eventos Preditos conforme Níveis Séricos de sTREM-1.** Distribuição de eventos preditos ajustados para TREM-1 Baixo e TREM-1 Alto nos pacientes HIV/AIDS.

## 5.2 Discussão

### 5.2.1 Características clínicas e laboratoriais nos pacientes HIV/AIDS internados

Os pacientes HIV que fazem o uso irregular da TARV, estão mais susceptíveis a desenvolver coinfeções, em relação aos que fazem o uso regular (FORD et al., 2018; PASSOS et al., 2020). Neste estudo, observou-se entre os óbitos uma percentagem maior de pacientes virgens de TARV, o que pode ter condicionado o seu mau prognóstico, tendo em conta que o prognóstico clínico favorável nos pacientes HIV, está relacionado com a maior adesão a TARV (CRUM et al., 2006; ZAGO et al., 2012). Belay et al. (2017), defendem que indivíduos que realizam o diagnóstico tardio do HIV, têm uma carga viral elevada, risco elevado de mortalidade e dificuldade em atingir

a supressão viral. A quantidade de células T CD4<sup>+</sup> e a carga viral no sangue são fundamentais para estabelecer o diagnóstico, prognóstico e medir o efeito do TARV, bem como permitir que o indivíduo compreenda a evolução durante o seu tratamento (ZHANG et al., 2020). Portanto, a terapia regular por TARV torna-se na melhor opção para alcançar a supressão viral, reduzir as coinfeções e conseqüentemente diminuir os casos de mortalidade (SIMON; HO; KARIM, 2006).

Os achados deste estudo indicam que a síndrome respiratória e neurológica foram as principais causas de internação hospitalar em pacientes HIV, o que corrobora com a pesquisa realizada por Ford et al. (2015), que relataram as síndromes respiratórias, neurológicas e digestivas, como as principais causas de admissão hospitalar em adultos na América do Sul.

Ademais, este estudo evidenciou a presença de maior prevalência de tuberculose como coinfeção associada ao HIV (31,9%), corroborando com o estudo de Haguihara et al. (2019), em que a tuberculose nos pacientes HIV foi a coinfeção mais prevalente com 33,3%. O *Mycobacterium tuberculosis* e HIV potencializam-se mutuamente, acelerando a deterioração da capacidade de defesa do organismo (BELL; NOURSADEGHI, 2018). Para além disso, a infecção do *Mycobacterium tuberculosis* tem um impacto negativo na resposta imunológica ao HIV, acelerando a progressão da infecção pelo HIV para a AIDS (BRUCHFELD; CORREIA-NEVES; KÄLLENIUS, 2015). A coinfeção toxoplasmose (*Toxoplasma gondii*) em indivíduos HIV, ocorre com frequência devido a reativação da infecção latente causada pela ruptura dos cistos (MALLA et al., 2005; WANG et al., 2017).

### 5.2.2 *Relação entre os níveis séricos do sTREM-1 e a mortalidade nos pacientes HIV/AIDS internados*

O TREM-1 tem sido empregue no estudo de diversas infecções virais tais como, Ebola pelo Mohamadzadeh et al. (2006), Dengue por Ruiz-Pacheco et al. (2014), HIV por Denner et al. (2013), Yuan et al. (2017), Hyun et al. (2019) e Campbell; To; Spector, (2019), além de recentemente em síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2), onde foram observados aumentos significativos dos níveis séricos de sTREM-1 na presença de infecção.

O potencial prognóstico do sTREM-1 na previsão de mortalidade foi avaliado em pacientes com Covid-19. Num estudo realizado por De Nooijer et al., (2021), observou-se que as concentrações mais altas de sTREM-1 foram significativamente maiores em pacientes que foram a óbito (326 [207-445] pg/mL) em comparação com os sobreviventes (199 [142-278] pg/mL, p<0,001). Assim, as concentrações plasmáticas mais altas de sTREM-1 foram relacionadas com o maior risco de óbito, corroborando com os achados desta pesquisa.



Em outro estudo realizado também em pacientes com diagnóstico de Covid-19, demonstrouse que o sTREM-1 teve melhor precisão prognóstica para mortalidade em 30 dias, com Área Sob a Curva (AUC) de 0.86 IC 95%, 0.77-0.95 (VAN SINGER et al., 2021). Conforme relatado por estes autores citados anteriormente, o presente estudo também sustenta que o sTREM-1 tem uma boa utilidade prognóstica na previsão de mortalidade e eventos de gravidade de doença em infecções virais, incluindo o HIV.

TREM-1 é uma proteína de superfície celular da célula mielóide-1, expresso em monócitos/macrófagos e neutrófilos. A ampliação da sua sinalização se dá pela ativação da via TREM-1/DAP12, que afeta as interações imunológicas e pode fornecer informações clínicas sobre as infecções. O sTREM-1, por sua vez, é gerado pela clivagem proteolítica do TREM-1 (CAO; GU; ZHANG, 2017).

O sTREM-1 é um marcador biológico útil no prognóstico, na previsão de gravidade da infecção e mortalidade, onde tem sido associado com o aumento significativo dos seus níveis séricos (GAO et al., 2019). Os níveis de sTREM-1 elevados na presença de infecção, são possivelmente causados pelo mecanismo compensatório do vírus para bloquear os processos inflamatórios. De forma alternada, tais aumentos podem estar ligados ao esforço do hospedeiro para neutralizar o vírus (CAMPBELL; TO; SPECTOR, 2019). Outra teoria, supõe que a associação dos níveis elevados do sTREM-1 com a gravidade de doenças, pode ser um reflexo do seu papel putativo como um amplificador de inflamação (DE OLIVEIRA MATOS et al., 2020).

As características da integração do HIV-1 em macrófagos são especiais em relação a células T CD4<sup>+</sup>, uma vez que os macrófagos são resistentes aos efeitos citopáticos do HIV-1, tornando-se um reservatório por longos períodos de tempo mesmo em pacientes com uso regular da TARV (KOK et al., 2016; VEROLLET et al., 2015). Para além disso, os macrófagos podem envolver células T CD4<sup>+</sup> infectadas com HIV-1, o que aumenta a probabilidade de infecção dos macrófagos e estabelecimento de latência (KOK et al., 2016). Os macrófagos infectados pelo HIV-1 migram para vários tecidos, constituído um reservatório viral estável em produção contínua, devido à menor concentração da TARV que chega (DECALF et al., 2017; VEROLLET et al., 2015). Em condições de TARV, as células T CD4<sup>+</sup> do sangue e dos tecidos da mucosa diminuem drasticamente, enquanto os macrófagos infectados morrem em uma taxa mais lenta do que as células T CD4<sup>+</sup> (CASTRO-GONZALEZ; COLOMER-LLUCH; SERRA-MORENO, 2018).

A glicoproteína gp41 do HIV desempenha um papel fundamental na estimulação e regulação positiva de TREM-1 (DENNER et al., 2013). O HIV promove a sobrevivência dos macrófagos por meio da supra regulação dependente de TREM-1 das proteínas da família BCL2 e proteínas fusogênicas (mitofusinas 1 e 2: MFN1 e MFN2), que bloqueiam a interrupção mediada por BCL2L11 do potencial de membrana mitocondrial (CAMPBELL; TO; SPECTOR, 2019).

O presente estudo teve algumas limitações que vale a pena salientar. Tratando-se de um estudo de coorte prospectivo, o número de pacientes incluídos na pesquisa foi menor, sendo necessário a realização de estudos multicêntricos envolvendo um número considerável maior de pacientes, de modo a elucidar mais uma vez o potencial preditivo da proteína solúvel TREM-1 na mortalidade em pacientes HIV. Para além disso, a amostra de sangue utilizada para medir os níveis séricos do sTREM-1 foi coletada apenas uma vez, isto é, no início após a admissão hospitalar, não permitindo demonstrar as variações séricas do sTREM-1 durante a internação dos pacientes. Outro ponto a considerar é que apesar dos pacientes incluídos terem o diagnóstico comprovado de HIV, alguns pacientes também apresentavam outras coinfeções, o que pode subestimar ou superestimar os valores de predição achados na medição dos níveis séricos do sTREM-1.

## **6 CONCLUSÃO**

As evidências apresentadas neste estudo demonstram que os óbitos apresentaram concentrações plasmáticas de sTREM-1 elevadas em comparação aos pacientes que sobreviveram, o que sustenta o papel do TREM-1 solúvel na gravidade da doença e na previsão de mortalidade em pacientes HIV. Estes achados indicam, que os níveis séricos altos do sTREM-1 estão relacionados com o maior risco de mortalidade em pacientes HIV/AIDS.

### **Perspectivas Clínicas para Futuros Estudos**

Avaliar a utilidade prognóstica de TREM-1 solúvel na previsão de mortalidade nos pacientes HIV em estudos multicêntricos;

Investigar o TREM-1 como um potencial novo alvo terapêutico para eliminar os reservatórios do HIV.

## REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, T. S. Human Immunodeficiency Virus Diagnostic Testing : 30 Years of Evolution. v. 23, n. 4, p. 249–253, 2016.
- AMRUN, S. N. et al. TREM-1 activation is a potential key regulator in driving severe pathogenesis of enterovirus A71 infection. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 3810, 2 dez. 2020.
- ANDRADE, V. M.; STEVENSON, M. Host and Viral Factors Influencing Interplay between the Macrophage and HIV-1. **J Neuroimmune Pharmacol.**, v. 14, n. 8, p. 33–43, 2019.
- ATKINSON, A. J. et al. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 69, n. 3, p. 89–95, 2001.
- BANDERA, A. et al. Phylogenies in ART: HIV reservoirs, HIV latency and drug resistance. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 48, p. 24–32, out. 2019.
- BELAY, H. et al. Effect of late HIV diagnosis on HIV-related mortality among adults in general hospitals of Central Zone Tigray, northern Ethiopia: a retrospective cohort study. **HIV/AIDS - Research and Palliative Care**, v. Volume 9, p. 187–192, set. 2017.
- BELL, L. C. K.; NOURSADEGHI, M. Pathogenesis of HIV-1 and Mycobacterium tuberculosis co-infection. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 80–90, 7 fev. 2018.
- BERGAMASCHI, A.; PANCINO, G. Host hindrance to HIV-1 replication in monocytes and macrophages. **Retrovirology**, v. 7, p. 1–17, 2010.
- BOTTONE, P. D.; BARTLETT, A. H. Diagnosing Acute HIV Infection. **Pediatric Annals**, v. 46, n. 2, p. e47–e50, fev. 2017.
- BOUCHON, A.; DIETRICH, J.; COLONNA, M. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 164, n. 10, p. 4991–5, 2000.
- BRASIL, M. DA S. **Boletim Epidemiológico HIV/Aids 2020** Secretaria de Vigilância em Saúde. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-hivaid-2020>>.
- BRENCHLEY, J. M. et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. **Nature Medicine**, v. 12, n. 12, p. 1365–1371, 2006.
- BRENNAN, F. M.; MCINNES, I. B. Typical engineer learning styles and their implications for the VE workshop. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 118, n. 11, p. 1–9, 2008.
- BRUCHFELD, J.; CORREIA-NEVES, M.; KÄLLENIUS, G. Tuberculosis and HIV Coinfection. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 7, p. a017871, jul. 2015.
- BRUEL, T.; SCHWARTZ, O. Markers of the HIV-1 reservoir: facts and controversies. **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 13, n. 5, p. 383–388, set. 2018.

BYRD, K. K. et al. Antiretroviral Adherence Level Necessary for HIV Viral Suppression Using Real-World Data. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 82, n. 3, p. 245–251, 1 nov. 2019.

CÁCERES, C. F. et al. Implementation of pre-exposure prophylaxis for human immunodeficiency virus infection: progress and emerging issues in research and policy. **Journal of the International AIDS Society**, v. 19, n. Suppl 6, p. 21108, out. 2016.

CAMPBELL-YESUFU, O. T.; GANDHI, R. T. Update on Human Immunodeficiency Virus (HIV)-2 Infection. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, n. 6, p. 780–787, 15 mar. 2011.

CAMPBELL, G. R.; TO, R. K.; SPECTOR, S. A. TREM-1 Protects HIV-1-Infected Macrophages from Apoptosis through Maintenance of Mitochondrial Function. **mBio**, v. 10, n. 6, p. 1–17, 12 nov. 2019.

CAO, C.; GU, J.; ZHANG, J. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1 (sTREM-1): a potential biomarker for the diagnosis of infectious diseases. **Frontiers of Medicine**, v. 11, n. 2, p. 169–177, 2017.

CAO, S.; WOODROW, K. A. Nanotechnology approaches to eradicating HIV reservoirs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 138, p. 48–63, maio 2019.

CASTRO-GONZALEZ, S.; COLOMER-LLUCH, M.; SERRA-MORENO, R. Barriers for HIV Cure: The Latent Reservoir. **AIDS Research and Human Retroviruses**, v. 34, n. 9, p. 739–759, set. 2018.

CHINEN, J.; SHEARER, W. T. Molecular virology and immunology of HIV infection. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 110, n. 2, p. 189–198, ago. 2002.

CHUN, T. W.; MOIR, S.; FAUCI, A. S. HIV reservoirs as obstacles and opportunities for an HIV cure. **Nature Immunology**, v. 16, n. 6, p. 584–589, 2015.

CORTES, E. et al. HIV-1, HIV-2, and HTLV-I Infection in High-Risk Groups in Brazil. **New England Journal of Medicine**, v. 320, n. 15, p. 953–958, 13 abr. 1989.

CRUM, N. F. et al. Comparisons of Causes of Death and Mortality Rates Among HIV-Infected Persons. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 41, n. 2, p. 194–200, 1 fev. 2006.

DA FONSECA, E. M.; BASTOS, F. I. Evolution of HIV/AIDS response in Brazil: Policy innovations and challenges in the fourth decade of the epidemic. **International Journal of Health Planning and Management**, v. 33, n. 1, p. e238–e250, 2018.

DAVENPORT, M. P. et al. Functional cure of HIV: the scale of the challenge. **Nature Reviews Immunology**, v. 19, n. 1, p. 45–54, 8 jan. 2019.

DE NOOIJER, A. H. et al. Increased sTREM-1 plasma concentrations are associated with poor clinical outcomes in patients with COVID-19. **Bioscience Reports**, v. 41, n. 7, 30 jul. 2021.

DE OLIVEIRA MATOS, A. et al. The role of the triggering receptor expressed on myeloid cells-

- 1 (TREM-1) in non-bacterial infections. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 46, n. 3, p. 237–252, 3 maio 2020.
- DECALF, J. et al. Sensing of HIV-1 Entry Triggers a Type I Interferon Response in Human Primary Macrophages. **Journal of Virology**, v. 91, n. 15, p. 1–15, 1 ago. 2017.
- DEEKS, S. G. et al. HIV infection. **Viral Infections in Children**, v. 1, n. October, p. 69–100, 2015.
- DENNER, J. et al. Modulation of Cytokine Release and Gene Expression by the Immunosuppressive Domain of gp41 of HIV-1. **PLoS ONE**, v. 8, n. 1, p. e55199, 30 jan. 2013.
- DIGET, E. A. et al. Characterization of HIV-1 Infection and Innate Sensing in Different Types of Primary Human Monocyte-Derived Macrophages. **Mediators of Inflammation**, v. 2013, p. 1–11, 2013.
- ELM, E. VON et al. Declaración de la Iniciativa STROBE (Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology): directrices para la comunicación de estudios observacionales. **Gaceta Sanitaria**, v. 22, n. 2, p. 144–150, mar. 2008.
- ENGELMAN, A.; CHEREPANOV, P. The structural biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 4, p. 279–290, 16 abr. 2012.
- FANALES-BELASIO, E. et al. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. **Ann Ist Super Sanità**, v. 46, n. 1, p. 5–14, 2010.
- FANTONI, M. et al. Multicentre study on the prevalence of symptoms and symptomatic treatment in HIV infection. **Journal of Palliative Care**, v. 13, p. 9–13, 1997.
- FORD, N. et al. Causes of hospital admission among people living with HIV worldwide: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet HIV**, v. 2, n. 10, p. e438–e444, out. 2015.
- FORD, N. et al. Benefits and risks of rapid initiation of antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 32, n. 1, p. 17–23, 2 jan. 2018.
- GAO, S. et al. The characteristics and pivotal roles of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in autoimmune diseases. **Autoimmunity Reviews**, v. 18, n. 1, p. 25–35, 2019.
- GIBOT, S. et al. Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells and the Diagnosis of Pneumonia in Lung Transplant Patients. **The new england journal of medicine original**, p. A4620, 2004.
- GIBOT, S. et al. Time-course of sTREM (soluble triggering receptor expressed on myeloid cells)-1, procalcitonin, and C-reactive protein plasma concentrations during sepsis. **Critical Care Medicine**, v. 33, n. 4, p. 792–796, 2005.
- GINGRAS, M. C.; LAPILLONNE, H.; MARGOLIN, J. F. TREM-1, MDL-1, and DAP12 expression is associated with a mature stage of myeloid development. **Molecular Immunology**, v. 38, n. 11, p. 817–824, 2002.
- GÓMEZ-PIÑA, V. et al. Metalloproteinases Shed TREM-1 Ectodomain from. **The Journal of**

**Immunology**, n. 1550–6606, 2007.

GRÄF, T. et al. HIV-1 molecular diversity in Brazil unveiled by 10 years of sampling by the national genotyping network. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 15842, 4 dez. 2021.

GUARNER, J. Human immunodeficiency virus: Diagnostic approach. **Seminars in Diagnostic Pathology**, v. 34, n. 4, p. 318–324, jul. 2017.

GUPTA, R. The current state of an HIV cure: innovative approaches and limitations. **EBioMedicine**, v. 42, p. 1–2, abr. 2019.

HAGUIHARA, T. et al. Factors associated with mortality in HIV patients failing antiretroviral therapy, in Salvador, Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 23, n. 3, p. 160–163, maio 2019.

HE, Y. et al. Inhibition of Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cell-1 Alleviates Acute Gouty Inflammation. **Mediators of Inflammation**, v. 2019, p. 1–10, 6 dez. 2019.

HYUN, J. et al. HIV and HCV augments inflammatory responses through increased TREM-1 expression and signaling in Kupffer and Myeloid cells. **PLOS Pathogens**, p. 1–28, 2019.

JEDYNAK, M. et al. Soluble TREM-1 Serum Level can Early Predict Mortality of Patients with Sepsis, Severe Sepsis and Septic Shock. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 66, n. 4, p. 299–306, 27 ago. 2018.

JIN, C. et al. MicroRNA-155 is a biomarker of T-cell activation and immune dysfunction in HIV-1-infected patients. **HIV Medicine**, v. 18, n. 5, p. 354–362, 2017.

KELKER, M. S.; DEBLER, E. W.; WILSON, I. A. Crystal structure of mouse triggering receptor expressed on myeloid cells 1 (TREM-1) at 1.76 Å. **Journal of Molecular Biology**, v. 344, n. 5, p. 1175–1181, 2004.

KLESNEY-TAIT, J.; TURNBULL, I. R.; COLONNA, M. The TREM receptor family and signal integration. **Nature Immunology**, v. 7, n. 12, p. 1266–1273, 16 dez. 2006.

KOK, Y. L. et al. Monocyte-derived macrophages exhibit distinct and more restricted HIV-1 integration site repertoire than CD4+ T cells. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 24157, 12 abr. 2016.

KUAI, J. et al. TREM-1 expression is increased in the synovium of rheumatoid arthritis patients and induces the expression of pro-inflammatory cytokines. **Rheumatology (Oxford, England)**, v. 48, n. 11, p. 1352–1358, 2009.

KULLER, L. H. et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. **PLoS Medicine**, v. 5, n. 10, p. 1496–1508, 2008.

KUMAR, A.; ABBAS, W.; HERBEIN, G. HIV-1 Latency in Monocytes/Macrophages. **Viruses**, v. 6, n. 4, p. 1837–1860, 22 abr. 2014.

KUO, H.-H.; LICHTERFELD, M. Recent progress in understanding HIV reservoirs. **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 13, n. 2, p. 137–142, mar. 2018.

LAHAYE, X. et al. The Capsids of HIV-1 and HIV-2 Determine Immune Detection of the Viral

- cDNA by the Innate Sensor cGAS in Dendritic Cells. **Immunity**, v. 39, n. 6, p. 1132–1142, 2013.
- LE DAI, D. et al. Symptom prevalence, burden and correlates among people living with HIV in Vietnam: a two-centre self-report study. **AIDS Care**, p. 1–7, 16 jun. 2021.
- MALLA, N. et al. Antigenaemia and antibody response to *Toxoplasma gondii* in human immunodeficiency virus-infected patients. **British Journal of Biomedical Science**, v. 62, n. 1, p. 19–23, 23 jan. 2005.
- MARLINK, E. et al. Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. **Science**, v. 265, n. 5178, p. 1587–1590, 2006.
- MCCLUSKEY, S. M.; SIEDNER, M. J.; MARCONI, V. C. Management of Virologic Failure and Human Immunodeficiency Virus Drug Resistance. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 33, n. 3, p. 707–742, set. 2019.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV em adultos e crianças**. 4<sup>a</sup> edição ed. Brasília - DF: [s.n.].
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **MANEJO DA INFECÇÃO PELO HIV EM ADULTOS**. 1<sup>a</sup> edição ed. Brasília - DF: [s.n.]. v. 1
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **PROFILAXIA PÓS-EXPOSIÇÃO (PEP) DE RISCO À INFECÇÃO PELO HIV, IST E HEPATITES VIRAIS**. 1<sup>a</sup> edição ed. Brasília - DF: [s.n.].
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Profilaxia pré-exposição (PrEP) de risco à infecção pelo HIV**. 1<sup>a</sup> edição ed. Brasília - DF: [s.n.]. v. 1
- MOHAMADZADEH, M. et al. Activation of Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 on Human Neutrophils by Marburg and Ebola Viruses. **Journal of Virology**, v. 80, n. 14, p. 7235–7244, 2006.
- MOIR, S.; CHUN, T.-W.; FAUCI, A. S. Pathogenic Mechanisms of HIV Disease. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 6, n. 1, p. 223–248, 2011.
- MOLAD, Y. et al. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 is a biomarker of anti-CCP-positive, early rheumatoid arthritis. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 45, n. 6, p. 557–564, 2015.
- NETO, P. V. DA S. et al. Prognostic value of sTREM-1 in COVID-19 patients: a biomarker for disease severity and mortality. **medRxiv**, n. 16, 2020.
- NISSL, J. et al. Combination anti-HIV-1 antibody therapy is associated with increased virus-specific T cell immunity. **Nature Medicine**, v. 26, n. 2, p. 222–227, 2020.
- PASSOS, D. F. et al. CD4/CD8 ratio, comorbidities, and aging in treated HIV infected individuals on viral suppression. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 12, p. 3254–3264, 30 dez. 2020.
- PELHAM, C. J.; AGRAWAL, D. K. Emerging roles for triggering receptor expressed on myeloid cells receptor family signaling in inflammatory diseases. **Expert Review of Clinical Immunology**, v. 10, n. 2, p. 243–256, 2014.



- PERKINS, N. J. et al. Principled Approaches to Missing Data in Epidemiologic Studies. **American Journal of Epidemiology**, v. 187, n. 3, p. 568–575, 1 mar. 2018.
- ROE, K.; GIBOT, S.; VERMA, S. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1): A new player in antiviral immunity? **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. NOV, p. 1–11, 2014.
- RUIZ-PACHECO, J. A. et al. TREM-1 modulation during early stages of dengue virus infection. **Immunology Letters**, v. 158, n. 1–2, p. 183–188, 2014.
- SANDLER, N. G. et al. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. **Journal of Infectious Diseases**, v. 203, n. 6, p. 780–790, 2011.
- SIEDNER, M. J.; TUMARKIN, E.; BOGOCH, I. I. HIV post-exposure prophylaxis (PEP). **BMJ**, v. 363, n. November, p. k4928, 29 nov. 2018.
- SIMON, V.; HO, D. D.; KARIM, Q. A. HIV / AIDS epidemiology , pathogenesis , prevention , and treatment. **Science**, v. 368, n. 9534, p. 489–504, 2006.
- SIMONETTI, F. R.; KEARNEY, M. F. Review: influence of ART on HIV genetics Francesco. **NeuroReport**, n. 11, p. 49–54, 2015.
- THIÉBAUT, R. et al. **Serum suppression of tumorigenicity 2 level is an independent predictor of all-cause mortality in HIV-infected patients.** [s.l: s.n.]. v. 31
- TIENEN, V. ( **Molecular** ) **epidemiology of HIV-1 , HIV-2 and HTLV-1 in Guinea-Bissau** Carla van Tienen. [s.l: s.n.].
- VAN SINGER, M. et al. COVID-19 risk stratification algorithms based on sTREM-1 and IL-6 in emergency department. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 147, n. 1, p. 99- 106.e4, 2021.
- VANSANT, G. et al. Block-And-Lock Strategies to Cure HIV Infection. **Viruses**, v. 12, n. 1, p. 84, 10 jan. 2020.
- VEROLLET, C. et al. HIV-1 reprograms the migration of macrophages Christel. v. 125, n. 10, p. 1611–1622, 2015.
- WANG, Z.-D. et al. Prevalence and burden of Toxoplasma gondii infection in HIV-infected people: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet HIV**, v. 4, n. 4, p. e177–e188, abr. 2017.
- WATTS, J. M. et al. Architecture and secondary structure of an entire HIV-1 RNA genome. **Nature**, v. 460, n. 7256, p. 711–716, ago. 2009.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **HIV / AIDS.** Disponível em: <<http://apps.who.int/gho/data/view.main.22100WHO?lang=en>>.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **HIV data and statistics.** Disponível em: <<https://www.who.int/teams/global-hiv-hepatitis-and-stis-programmes/hiv/strategic-information/hiv-data-and-statistics>>. Acesso em: 24 jul. 2021.
- YUAN, Z. et al. HIV-related proteins prolong macrophage survival through induction of

Triggering receptor expressed on myeloid cells-1. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 42028, 9 fev. 2017.

ZAGO, A. M. et al. Abandonment of Antiretroviral Therapy among HIV-Positive Patients Attended at the Reference Center for HIV/AIDS in Vitória, Brazil. **Journal of the International Association of Physicians in AIDS Care**, v. 11, n. 1, p. 5–8, 29 fev. 2012.

ZHANG, L.-X. et al. HIV Reservoir Decay and CD4 Recovery Associated With High CD8 Counts in Immune Restored Patients on Long-Term ART. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. July, p. 1–12, 23 jul. 2020.

## ANEXOS

## ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA



Anexo 1 - Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa do projeto central, intitulado "Parâmetros clínicos e laboratoriais como preditores de óbito em pacientes HIV/AIDS internados"

FUNDAÇÃO DE MEDICINA  
TROPICAL "DOUTOR HEITOR  
VIEIRA DOURADO"



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** PARÂMETROS CLÍNICOS E LABORATORIAIS COMO PREDITORES DE ÓBITO EM PACIENTES HIV/AIDS INTERNADOS

**Pesquisador:** Monique Freire dos Reis

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 89665118.6.0000.0005

**Instituição Proponente:** Diretoria de Ensino e Pesquisa - DENPE

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.772.107

#### Apresentação do Projeto:

conforme parecer #2.677.161, de 25/05/2018.

#### Objetivo da Pesquisa:

conforme parecer #2.677.161, de 25/05/2018.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

conforme parecer #2.677.161, de 25/05/2018.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

conforme parecer #2.677.161, de 25/05/2018.

#### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

conforme parecer #2.677.161, de 25/05/2018.

#### Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

##### LISTA DE PENDÊNCIAS:

1) Carta de anuência da FHEMOAM assumindo a realização e, eventualmente, os custos das análises laboratoriais a serem realizadas em suas dependências.

RESPOSTA: Adequação realizada. Vide Anexo, página 35. Os custos serão assumidos exclusivamente pela pesquisadora, conforme descrito no item 7 Financiamento.

PENDÊNCIA ATENDIDA

**Endereço:** Av. Pedro Teixeira, 25  
**Bairro:** D. Pedro I  
**UF:** AM **Município:** MANAUS **CEP:** 69.040-000  
**Telefone:** (02)2127-3572 **Fax:** (02)2127-3572 **E-mail:** cep@frit.am.gov.br

Página 01 de 03



FUNDAÇÃO DE MEDICINA  
TROPICAL "DOUTOR HEITOR  
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 2.172.107

2) ajuste do TCLE conforme sugerido anteriormente.

RESPOSTA: Adequação realizada. Vide Apêndice B, página 30.

PENDÊNCIA ATENDIDA

3) Levando-se em consideração tratar-se de estudo de coorte prospectivo, analítico. Indaga-se qual o grupo controle do estudo? esclarecer.

RESPOSTA: O grupo controle para todas as variáveis descritas será constituído pelos pacientes que não evoluírem para desfecho letal, uma vez que o desfecho de interesse é o óbito, conforme descrito no item 3.6 Análise estatística.

PENDÊNCIA ATENDIDA

Estando atendidas as pendências conforme exposto acima, sou de parecer favorável à aprovação do referido protocolo, salvo melhor juízo.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O presente projeto está APROVADO e os interessados ficam informados de apresentar a este CEP os relatórios, parciais e o final, do estudo conforme prevê a Resolução CNS nº 466/2012, utilizando o formulário de Roteiro para Relatório Parcial/Final de estudos clínicos Unicêntricos e Multicêntricos, proposto pela CONEP em nossa home page.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_1122541.pdf	11/06/2018 22:47:11		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	HEMOAM.pdf	11/06/2018 22:46:27	Monique Freire dos Reis	Aceito
Outros	Resposta_parecer.docx	11/06/2018 22:44:53	Monique Freire dos Reis	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_2.docx	11/06/2018 22:43:56	Monique Freire dos Reis	Aceito
Projeto Detalhado	Projeto_tese_CEP.docx	11/06/2018	Monique Freire dos Reis	Aceito

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69 040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (02)2127-3572

Fax: (02)2127-3572

E-mail: cep@fnt.em.gov.br



FUNDAÇÃO DE MEDICINA  
TROPICAL "DOUTOR HEITOR  
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 2.772.107

/ Brochura Investigador	Projeto_tese_CEP.docx	22:43:42	Reis	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto.pdf	15/05/2018 23:04:41	Monique Freire dos Reis	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

MANAUS, 16 de Julho de 2018

---

Assinado por:  
Marilaine Martins  
(Coordenador)

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25  
Bairro: D. Pedro I CEP: 69.040-000  
UF: AM Município: MANAUS  
Telefone: (92)2127-3572 Fax: (92)2127-3572 E-mail: cop@fimt.am.gov.br

## ANEXO B- INSTRUÇÕES PARA REALIZAR HUMAN TREM-1 ELISA KIT

invitrogen

PRODUCT INFORMATION SHEET

### Human TREM-1 ELISA Kit

Catalog Number EHTREM1 (96 tests)

Rev. 1.0 | Same protocol, just a new look

#### Product description

The Human TREM-1 ELISA Kit is a solid-phase sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) designed to detect and quantify the level of human TREM-1 in serum, plasma, and cell culture media.

#### Contents and storage

Upon receipt, store the kit at 2°C to 8°C.

Components	Cat. No. EHTREM1 (96 tests)
Human TREM-1 Antibody Coated wells, 96 well plate	1 plate
Human TREM-1 Biotin Conjugate	2 vials
Human TREM-1 Standard, recombinant human TREM-1	2 vials
Wash Buffer Concentrate (20X)	25 mL
Assay Diluent A. Contains 0.09% sodium azide	30 mL
Assay Diluent B (5X concentrated buffer)	15 mL
Streptavidin-HRP (500X)	0.125 mL
TMB Substrate	12 mL
Stop Solution	8 mL
Adhesive Plate Covers	2



**CAUTION!** This kit contains materials with small quantities of sodium azide. Sodium azide reacts with lead and copper plumbing to form explosive metal azides. Upon disposal, flush drains with a large volume of water to prevent azide accumulation. Avoid ingestion and contact with eyes, skin and mucous membranes. In case of contact, rinse affected area with plenty of water. Observe all federal, state and local regulations for disposal.

#### Materials required but not supplied

- Distilled or deionized water
- Microtiter plate reader with software capable of measuring at 450 nm
- Plate washer-automated or manual (manifold dispenser)
- Calibrated adjustable precision pipettes and glass or plastic tubes for diluting solutions

#### Procedural guidelines

- Review the **Procedural guidelines** and **Plate washing directions** in the *ELISA Technical Guide* available at [thermofisher.com](http://thermofisher.com) for details prior to starting the procedure.
- Reagents are lot-specific. Do not mix or interchange different reagent lots from various kit lots.

#### Prepare 1X Wash Buffer

1. Allow Wash Buffer Concentrate (20X) to reach room temperature and mix to redissolve any precipitated salts.
2. Dilute 20 mL of the Wash Buffer Concentrate into 380 ml of deionized or distilled water. Label as 1X Wash Buffer.
3. Store the concentrate and 1X Wash Buffer in the refrigerator. Use the diluted buffer within one month.

#### Prepare diluent

- Assay Diluent B should be diluted 5-fold with deionized or distilled water before use.

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

### Prepare biotin conjugate

1. Briefly spin down the biotin conjugate before use.
2. Add 100  $\mu\text{L}$  of 1X Assay Diluent B into the vial to prepare a biotin conjugate concentrate.
3. Pipette up and down to mix gently (the concentrate can be stored at 4°C for 5 days).
4. The biotin conjugate concentrate should be diluted 80-fold with 1X Assay Diluent B and used in step 4 of ELISA procedure.

### Sample preparation guidelines

- Collect samples in pyrogen/endotoxin-free tubes.
- Freeze samples after collection if samples will not be tested immediately. Avoid multiple freeze-thaw cycles of frozen samples. Thaw completely and mix well (do not vortex) prior to analysis.
- Avoid the use of hemolyzed or lipemic sera. If large amounts of particulate matter are present in the sample, centrifuge or filter sample prior to analysis.

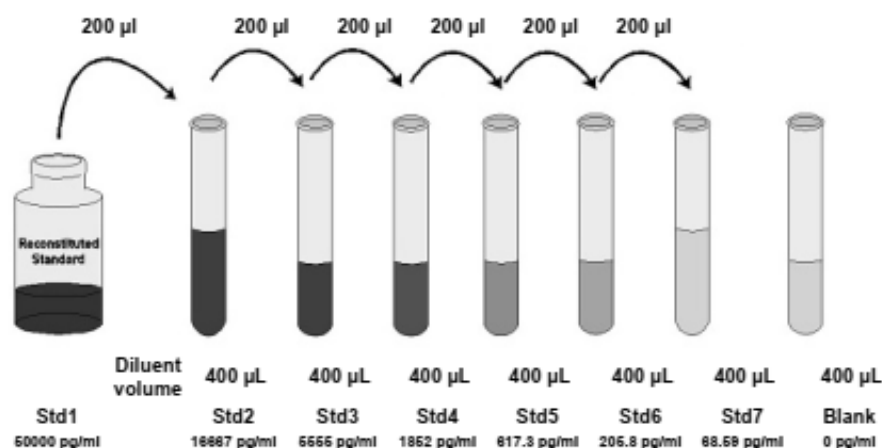
### Pre-dilute samples

- Assay Diluent A should be used for dilution of serum and plasma samples. 1X Assay Diluent B should be used for dilution of cell culture supernatant samples.
- Dilute **serum and plasma** 2 fold.
- Because conditions may vary, it is recommended that each investigator determine the optimal dilution to be used for each application.

### Dilute standards

Note: Use glass or plastic tubes for diluting standards.

1. Briefly spin down a vial of lyophilized standard.
2. Add 400  $\mu\text{L}$  Assay Diluent A (for serum/plasma samples) or 1X Assay Diluent B (for cell culture supernatants) into the lyophilized standard vial to prepare a 50 ng/mL standard. Dissolve the powder thoroughly by gentle mixing. Pipette 400  $\mu\text{L}$  Assay Diluent (A or B) into each tube. Use the 50,000 pg/mL standard solution to produce a dilution series (shown below). Mix each tube thoroughly before the next transfer. Assay Diluent (A or B) serves as the zero standard (0 pg/mL).



### Prepare 1X Streptavidin-HRP solution

Note: Prepare the Streptavidin-HRP within 15 minutes of usage.

1. Briefly spin the Streptavidin-HRP and pipette up and down to mix gently before use, as precipitates may form during storage.
2. Dilute Streptavidin-HRP 500-fold with 1X Assay Diluent B.
3. Do not store diluted solution for future use.








## Perform ELISA (Total assay time: 4 hours and 45 minutes)

Allow all reagents to reach room temperature before use. Mix all liquid reagents prior to use.

**IMPORTANT!** Perform a standard curve with each assay.

Determine the number of 8-well strips required for the assay. Insert the strips in the frames for use. Re-bag any unused strips and frames, and store at 2 to 8°C for future use.



- 1 **Bind antigen**

  - a. For the standard curve, add 100  $\mu\text{L}$  of standards to the appropriate wells (see Dilute standards). For samples, add 100  $\mu\text{L}$  of diluted samples (see Dilute samples) to the wells.
  - b. Cover wells and incubate for 2.5 hours at room temperature or over night at 4°C with gentle shaking.
  - c. Discard the solution and wash 4 times with 1X Wash Buffer. Wash by filling each well with Wash Buffer (300  $\mu\text{L}$ ) using a multi-channel Pipette or autowasher. Complete removal of liquid at each step is essential for good performance. After the last wash, remove any remaining Wash Buffer by aspirating or decanting. Invert the plate and blot it against clean paper towels.
- 2 **Add biotin conjugate**

  - a. Add 100  $\mu\text{L}$  of prepared biotin conjugate (see Prepare biotin conjugate) to each well.
  - b. Incubate for 1 hour at room temperature with gentle shaking.
  - c. Discard the solution. Repeat the wash as in step 3.
- 3 **Add Streptavidin-HRP**

  - a. Add 100  $\mu\text{L}$  of prepared Streptavidin-HRP solution (see Prepare Streptavidin-HRP solution) to each well.
  - b. Incubate for 45 minutes at room temperature with gentle shaking.
  - c. Discard the solution. Repeat the wash as in step 3.
- 4 **Add TMB substrate**

  - a. Add 100  $\mu\text{L}$  of TMB Substrate to each well. The substrate will begin to turn blue.
  - b. Incubate for 30 minutes at room temperature **in the dark** with gentle shaking.
- 5 **Add stop solution**


Add 50  $\mu\text{L}$  of Stop Solution to each well. Tap the side of the plate gently to mix. The solution in the well changes from blue to yellow.

### Read the plate and generate the standard curve

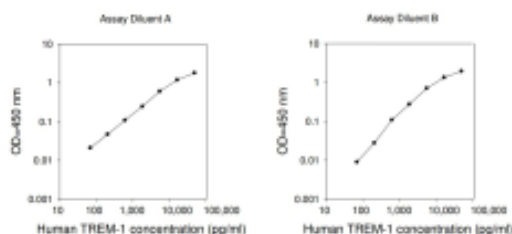
1. Read the absorbance at 450 nm. Read the plate within 30 minutes after adding the Stop Solution.
2. Use curve-fitting software to generate the standard curve. A four parameter algorithm provides the best standard curve fit. Optimally, the background absorbance may be subtracted from all data points, including standards, unknowns and controls, prior to plotting.
3. Read the concentrations for unknown samples and control from the standard curve. Multiple value(s) obtained for sample(s) by the appropriate factor to correct for the sample dilution.

Note: Dilute samples producing signals greater than that of the highest standard in Standard Diluent Buffer and reanalyze. Multiply the concentration by the appropriate dilution factor.

### Performance characteristics

#### Standard curve (example)

These standard curves are for demonstration only. A standard curve must be run with each assay.



#### Intra-assay precision

To determine intra-assay precision, two standard curves and 3 samples for each standard curve are run. The standard curve concentration points as well as the samples are tested in duplicates on a single plate. Two different concentration values are obtained for each sample, using the two separate standard curves. The two concentration values for each sample is compared to each other using the CV% calculation.

Intra-Assay CV%: <10%

#### Inter-assay precision

To evaluate inter-assay precision, the second standard curve is tested on a separate plate along with the second set of samples.

Inter-Assay CV%: <12%

#### Recovery

Sample Type	Average %	Recovery Range (%)
Serum	126	91-145
Plasma	116	94-115
Cell Culture Media	124	106-134

## ANEXO C – LICENÇA DE PUBLICAÇÃO DE FIGURAS



49 Spadina Ave. Suite 200  
Toronto ON M5V 2J1 Canada  
www.biorender.com

### Confirmation of Publication and Licensing Rights

September 13th, 2021  
Science Suite Inc.

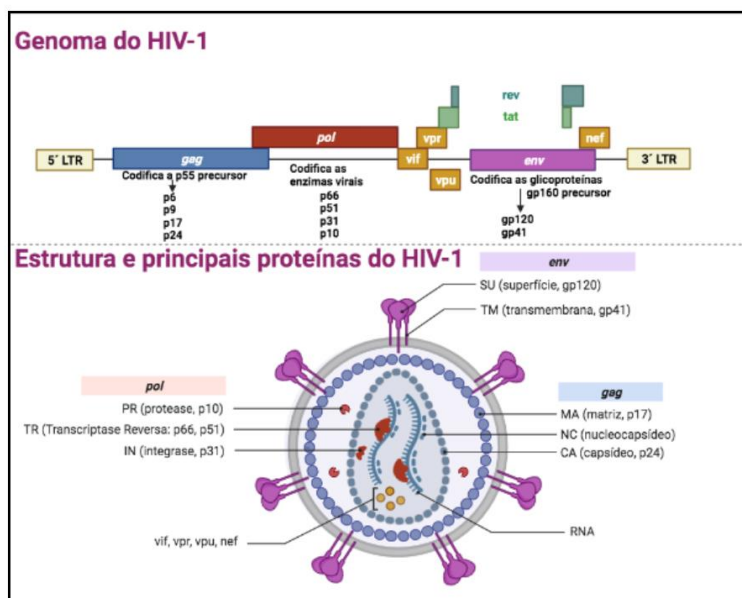
**Subscription:** Individual  
**Agreement number:** IX22YAA3UG  
**Journal name:** Master Degree Dissertation

To whom this may concern,

This document is to confirm that **Antonio luiz Boechat** has been granted a license to use the BioRender content, including icons, templates and other original artwork, appearing in the attached completed graphic pursuant to BioRender's [Academic License Terms](#). This license permits BioRender content to be sublicensed for use in journal publications.

All rights and ownership of BioRender content are reserved by BioRender. All completed graphics must be accompanied by the following citation: "Created with BioRender.com".

BioRender content included in the completed graphic is not licensed for any commercial uses beyond publication in a journal. For any commercial use of this figure, users may, if allowed, recreate it in BioRender under an Industry BioRender Plan.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender refer to our [BioRender Publication Guide](#), or contact BioRender Support at [support@biorender.com](mailto:support@biorender.com).

## Confirmation of Publication and Licensing Rights

September 13th, 2021  
Science Suite Inc.

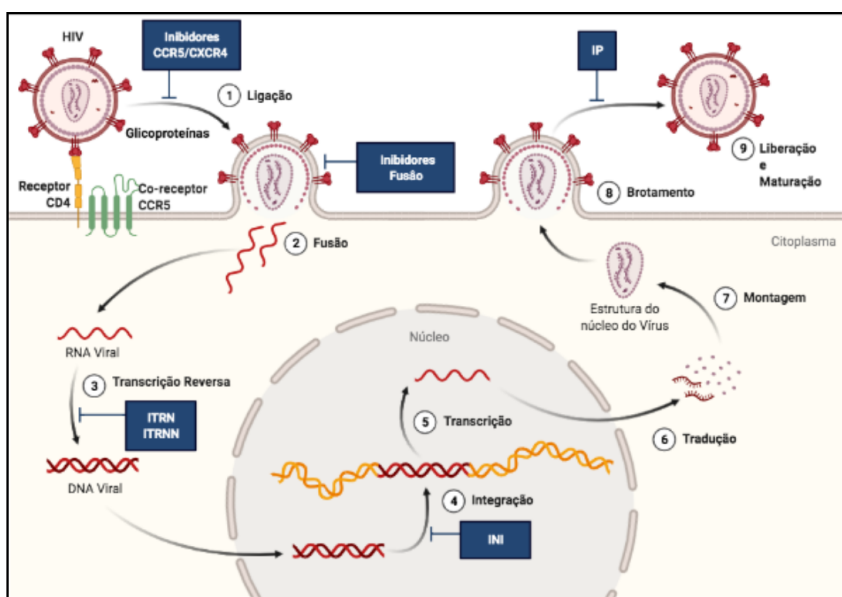
**Subscription:** Individual  
**Agreement number:** AZ22YA9Y2S  
**Journal name:** Master Degree - Dissertation

To whom this may concern,

This document is to confirm that **Antonio luiz Boechat** has been granted a license to use the BioRender content, including icons, templates and other original artwork, appearing in the attached completed graphic pursuant to BioRender's [Academic License Terms](#). This license permits BioRender content to be sublicensed for use in journal publications.

All rights and ownership of BioRender content are reserved by BioRender. All completed graphics must be accompanied by the following citation: "Created with BioRender.com".

BioRender content included in the completed graphic is not licensed for any commercial uses beyond publication in a journal. For any commercial use of this figure, users may, if allowed, recreate it in BioRender under an Industry BioRender Plan.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender refer to our [BioRender Publication Guide](#), or contact BioRender Support at [support@biorender.com](mailto:support@biorender.com).

## Confirmation of Publication and Licensing Rights

September 13th, 2021  
Science Suite Inc.

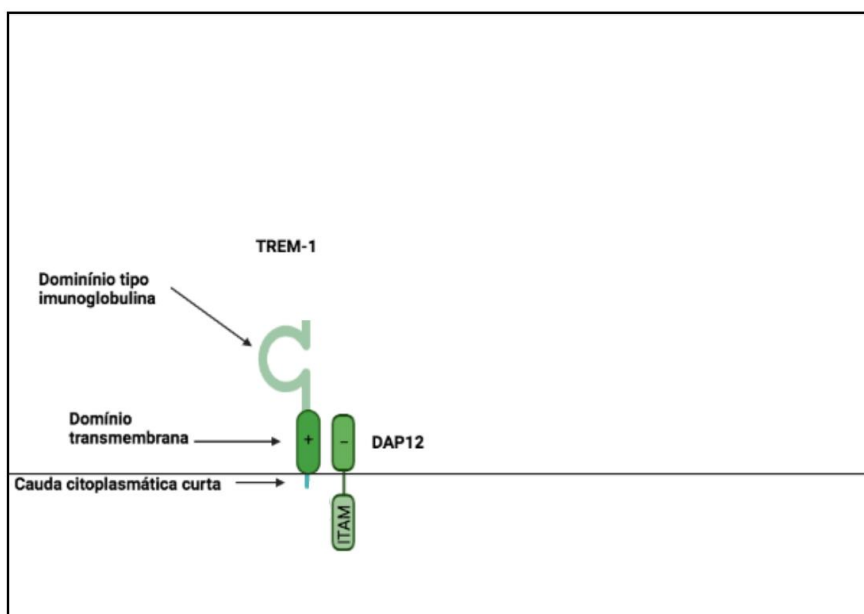
**Subscription:** *Individual*  
**Agreement number:** *WW22YAAADG*  
**Journal name:** *Master Degree Dissertation*

To whom this may concern,

This document is to confirm that **Antonio Luiz Boechat** has been granted a license to use the BioRender content, including icons, templates and other original artwork, appearing in the attached completed graphic pursuant to BioRender's [Academic License Terms](#). This license permits BioRender content to be sublicensed for use in journal publications.

All rights and ownership of BioRender content are reserved by BioRender. All completed graphics must be accompanied by the following citation: "Created with BioRender.com".

BioRender content included in the completed graphic is not licensed for any commercial uses beyond publication in a journal. For any commercial use of this figure, users may, if allowed, recreate it in BioRender under an Industry BioRender Plan.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender refer to our [BioRender Publication Guide](#), or contact BioRender Support at [support@biorender.com](mailto:support@biorender.com).