



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Mayara Gomes Arruda

**FATORES ASSOCIADOS À NÃO RESPOSTA
IMUNOLÓGICA APÓS TERAPIA ANTIRRETROVIRAL
ADEQUADA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Profa. Associada Lenice do Rosário de Souza.

Botucatu

2019

Mayara Gomes Arruda

**FATORES ASSOCIADOS À NÃO RESPOSTA
IMUNOLÓGICA APÓS TERAPIA
ANTIRRETROVIRAL ADEQUADA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Profa. Associada Lenice do Rosário de Souza

Botucatu

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

Arruda, Mayara Gomes.

Fatores associados à não resposta imunológica após
terapia antirretroviral adequada / Mayara Gomes Arruda.
- Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de
Botucatu

Orientador: Lenice do Rosário de Souza

Capes: 40101096

1. HIV. 2. Indicadores biológicos. 3. Linfócitos. 4.
Resposta imune.

Palavras-chave: HIV; Não respondedores imunológicos; T
CD4+.

Mayara Gomes Arruda

**FATORES ASSOCIADOS À NÃO RESPOSTA IMUNOLÓGICA APÓS
TERAPIA ANTIRRETROVIRAL ADEQUADA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de mestre

Orientadora: Profa. Associada Lenice do Rosário de Souza

Comissão examinadora

Profa. Dra. Lenice do Rosário de Souza

Universidade Estadual Paulista

Prof. Dr. Alexandre Naime Barbosa

Universidade Estadual Paulista

Profa. Dra. Marisa Ailin Hong

Instituto Adolfo Lutz

Botucatu, 15 de agosto de 2019

DEDICATÓRIA

A Deus que me deu a oportunidade de estar aqui e me ajudou em todos os momentos, Ele é o maior mestre que alguém pode conhecer.

A minha mãe Márcia que me incentivou desde os meus primeiros passos, e me concedeu todo suporte para chegar até aqui. A minha irmã Julia e padrasto Giovani por todo carinho e amor incondicional.

A minha grande amiga Dielly, que me deu todo suporte e foi a minha família quando eu estava longe da minha em Botucatu.

Ao amor da minha vida Renan, por toda compreensão e ajuda nesses anos de estudo.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Lenice do Rosário de Souza a quem agradeço imensamente, pois me ajudou a realizar um grande sonho, sem sua orientação e disposição nada disso seria possível.

A mestre Vanessa Manfio e a doutora Karen Tasca por toda ajuda, atenção e suporte, sou extremamente grata.

Ao professor José Eduardo que prestou todo o suporte estatístico.

Às bibliotecárias da divisão técnica da UNESP de Botucatu, pelo auxílio na orientação bibliográfica.

À sessão Técnica de pós-graduação, em especial a Bruna Quintino que sempre procurou ajudar de todas as maneiras.

À toda equipe do SAE-DAM, por toda atenção e ajuda.

À CAPES pelo apoio.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Tudo quanto te vier à mão para fazer, faze-o conforme as tuas forças, porque na sepultura, para onde tu vais, não há obra nem projeto, nem conhecimento, nem sabedoria alguma.”

Eclesiastes 9:10

RESUMO

Arruda, G.M. **Fatores associados à não resposta imunológica após terapia antirretroviral adequada.** 2019. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2019.

Algumas pessoas que vivem com HIV/Aids (PVHA) apresentam-se como não respondedores imunológicos, o que consiste em linfócitos T CD4⁺ abaixo de 350/mm³, após pelo menos um ano de tratamento e com cargas virais do HIV em níveis indetectáveis. Tratou-se de estudo retrospectivo, cujo objetivo foi avaliar marcadores clínicos e laboratoriais como características de não resposta imunológica em PVHA. Foram analisados 52 pacientes: 26 não respondedores imunológicos (G1) e 26 com resposta adequada (G2), que apresentavam contagens de linfócitos T CD4⁺ abaixo de 350 células/mm³, no pré-tratamento. Avaliações metabólicas e inflamatórias foram realizadas em cinco momentos: pré-tratamento, seis, 12, 24 e 36 meses após início da terapia. As variáveis foram perfil lipídico, proteína C reativa (PCR), *clearance* de creatinina, hemoglobina, leucócitos e linfócitos totais, contagens de CD4⁺ e relação T CD4⁺/CD8⁺. Dos 52 pacientes, 80,7% eram homens, com médias de idades de 35 a 55 anos. As médias de cargas virais no pré-tratamento para G1 foram de 5,41 e para G2 5,40 em log₁₀ (cópias de RNA/mL), não havendo diferença (p=0,16) entre os grupos. Houve diferenças na PCR entre os momentos iniciais, seis, 12 e 36 meses (p<0,001), com níveis mais elevados em G1. Na comparação dos linfócitos CD4⁺ e a relação CD4⁺/CD8⁺ foram menores em todos os períodos, em G1. Houve diferença entre os grupos para triglicérides, mais altos em G2 no momento inicial (p 0,004) e com seis meses (p 0,001), bem como para colesterol aos 12 meses (0,004). A hemoglobina foi mais baixa em G1 (P 0,003) no momento inicial. Tanto os leucócitos quanto os linfócitos totais encontravam-se mais baixos no G1 em todos os momentos, não apresentando diferenças apenas aos 36 meses para leucócitos e 24 meses para linfócitos. As conclusões do presente estudo foram que a PCR elevada, a baixa relação CD4⁺/CD8⁺, anemia e leucopenia foram as principais características pré-tratamento e fatores de risco de indivíduos não respondedores imunológicos à terapia antirretroviral adequada.

Palavras-Chave: Não resposta imunológica, resposta imunológica discordante, CD4⁺, CD8⁺, HIV/AIDS, TARV.

Sumário

I. INTRODUÇÃO	4
1. Infecção pelo hiv/aids	4
2. Não respondedores imunológicos à terapia antirretroviral	5
3. Hemoglobina	7
4. Colesterol total, HDL e triglicérides.....	7
5. Proteína C reativa (PCR)	8
6. Creatinina	9
7. Sistema imune adaptativo.....	9
8. Contagem de T CD4 ⁺ e T CD8 ⁺	12
9. Objetivos	13
II. CASUISTICA E MÉTODOS	14
1. Delineamento do estudo.....	14
2. Local do estudo	14
3. Período do estudo	14
4. Casuística.....	14
5. Critérios de inclusão e exclusão	15
6. Grupos de estudo	15
7. Coleta de dados.....	16
8. Análise estatística.....	17
III. Resultados	19
IV. DISCUSSÃO	28
V. CONCLUSÕES	34
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
VII. ANEXOS	40

I. INTRODUÇÃO

1. Infecção pelo HIV/aids

Os primeiros casos de infecção causada pelo HIV foram relatados em 1981, nos Estados Unidos da América (EUA), Haiti e África Central.¹

Atualmente existem cerca de 36,9 milhões de pessoas vivendo com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) ou aids (PVHA) no mundo. Cerca de 1,8 milhão de pessoas ainda são infectadas pelo vírus anualmente. Em contrapartida, a ação da terapia antirretroviral (TARV) combinada tem reduzido a morbimortalidade relacionada à doença, o que deixou de ser uma sentença de morte. Além disso, a taxa de mortalidade por HIV/aids sofreu decréscimo de 51% de 2004 para 2017, quando foram registradas 940.000 mortes.²

No Brasil, foram notificados 926.742 PVHA desde o início da epidemia, em 1980 até junho de 2018, sendo que em 2017 foram diagnosticados 42.200 novos casos e foram registradas 11.463 mortes que tiveram a aids como causa básica.³

O dano progressivo do sistema imunológico é uma preocupação central em PVHA. Entre as células que se infectam pelo HIV, o linfócito T CD4⁺ é o principal alvo, levando à imunodepressão, o que torna o indivíduo mais suscetível às doenças oportunistas, incluindo neoplasias.¹

As contagens das células T CD4⁺ são os marcadores imunológicos mais utilizados para monitoramento e avaliação da evolução da doença na prática clínica. Eles possuem receptores em sua superfície a fim de reconhecer as células apresentadoras de antígeno (APC) e quando ativadas secretam citocinas que promovem o crescimento e diferenciação da função dos linfócitos B, APC e outras células.⁴

A contagem de linfócitos T CD4⁺ em indivíduos não infectados pelo HIV varia entre 500 e 1500 células/mm³, sendo que o percentual situa-se normalmente em torno dos 40%, podendo chegar a menos de 20% em PHVA, refletindo imunossupressão grave.⁴ A citometria de fluxo é a ferramenta qualitativa e quantitativa, que possibilita contagens absoluta e percentual das células T por milímetro cúbico de sangue.⁵

Contagens baixas de linfócitos T CD4⁺ e elevadas cargas virais plasmáticas do HIV estão relacionadas também a distúrbios inflamatórios e metabólicos. O

controle adequado destes distúrbios nas PVHA com a TARV contribui para melhor qualidade e aumento da expectativa de vida.^{6,7}

A atividade inflamatória na infecção pelo HIV ocorre pela ativação imune induzida pela replicação viral, porém com o início precoce da TARV, ainda durante a infecção aguda, é possível atingir e manter a supressão da viremia, diminuindo a destruição dos linfócitos T CD4⁺ e, conseqüentemente, levando à restauração imunológica parcial, com normalização da cascata de coagulação e dos biomarcadores inflamatórios sistêmicos. No entanto, a diminuição do quadro inflamatório pode não ocorrer em todos os casos, tornando-se necessário outras intervenções.⁸

Em contrapartida, estudos demonstram que o uso da TARV leva a diversos eventos adversos tardios e comorbidades, tais como, lipodistrofia, que é a distribuição anormal de gordura corporal e maior propensão à síndrome metabólica.⁶

O "envelhecimento precoce" tem como um dos fatores o uso prolongado da TARV, cujas doenças típicas são diabetes *mellitus*, alterações cardiovasculares, ósseas, malignidades entre outras, apesar do inquestionável benefício do tratamento na diminuição da morbimortalidade na aids.^{9 10,11,12} Alguns autores^{13,14} demonstraram que a inflamação causada pelo HIV é uma das principais causas de eventos cardiovasculares e de outras morbidades crônicas.

Nesse sentido, o estudo SMART¹⁵ demonstrou que PVHA não tratadas também apresentavam frequência maior desses eventos não relacionados à aids, quando comparados à população geral.

Considerando todos esses aspectos, nos diversos programas mundiais de controle e tratamento da infecção pelo HIV, a indicação atual é de iniciar a TARV para todos as PHVA, a partir do diagnóstico, visando, inclusive a diminuição no risco de transmissão do vírus.¹⁵

2. Não respondedores imunológicos à terapia antirretroviral

Não há consenso na literatura sobre a melhor definição de sucesso ou insucesso na resposta imunológica após TARV em longo prazo. No entanto, são considerados não respondedores imunológicos ou com resposta imune discordante, os indivíduos que após o início da TARV, com uso regular e contínuo, não obtêm elevação nas contagens de linfócitos T CD4⁺, mostrando, assim,

deficiência na recuperação dessas células, apesar da queda das cargas virais para níveis indetectáveis.¹⁶

A proporção de PVHA que apresenta não resposta imunológica varia de 15% a 44%, de acordo com alguns autores.^{17,18} Às vezes, relacionam essa situação à ausência de definição e uniformidade da resposta imune ideal e, também, pelas limitações impostas pelo método de contagens de linfócitos T CD4⁺, que é usado como único marcador de reconstituição imune disponível na prática clínica.¹¹

Existem inúmeras discussões sobre a relevância de possíveis fatores de risco envolvidos na não resposta imunológica, tais como, idade avançada no início do tratamento, baixas contagens iniciais de células T CD4⁺ e uso prévio de drogas injetáveis.^{19,20,21,22}

Em geral, após seis meses do início da TARV a maioria das PHVA apresenta cerca de 50 células/mm³ a mais de T CD4⁺ no sangue periférico e, após um ano é observado aumento de 100 células/mm³, além de resposta virológica completa, ou seja, carga viral plasmática abaixo do limite de detecção. Esses mesmos estudos demonstraram que a mortalidade por infecções oportunistas diminui quando os pacientes atingem pelo menos 350 células T CD4⁺/mm³ após a terapia.^{20,22} Vários autores^{20,22,23,24} consideram o tempo de seis a 12 meses ideal para que ocorra resposta adequada à TARV.

Rousseau et al.²¹, em estudo realizado na Universidade de Toronto, no Canadá, definiram como não respondedores imunológicos aqueles participantes que mantiveram a supressão completa do vírus por mais de dois anos, porém mantinham contagens abaixo de 350 células T CD4⁺/mm³. Para esse estudo²¹, 36 homens que fazem sexo com homens (HSH) foram recrutados e 15 deles foram caracterizados como não respondedores imunológicos. Estes apresentaram redução na relação CD4⁺/CD8⁺ e a menor contagem de células T CD4⁺ foi associada à maior ativação de células T CD8⁺, além de terem apresentado tendência de elevação nos marcadores de coagulação.

Além da não resposta, para alguns indivíduos ocorre atraso na reconstituição imunológica, que diferencia do primeiro por apresentar contagens de T CD4⁺ abaixo de 350 células/mm³ mesmo após meses do início do tratamento.²²

3. Hemoglobina

A hemoglobina vem sendo associada com a progressão da infecção pelo HIV, tanto em populações não tratadas, quanto em tratadas. Segundo Berhane et al.²⁵, 80% das PHVA que evoluem para estágio avançado da aids apresentam anemia.

As manifestações da anemia não diferem significativamente quando comparadas entre população geral e PVHA, mas estas últimas podem apresentar pior qualidade de vida e diminuição da sobrevivência.^{26,27}

Estudo²⁸ transversal realizado na China com PVHA recém-diagnosticadas e que ainda não tinham iniciado TARV, demonstrou que aqueles com menores contagens de T CD4⁺ e com idade mais avançada tinham alta prevalência de anemia.

Traisathit et al.²⁹ demonstraram em adolescentes infectados pelo HIV da Tailândia que a hemoglobina menor do que 8g/dL foi um dos fatores que estavam fortemente associados à maior incidência de mortalidade.

Em relação aos não respondedores imunológicos, estudo realizado em Botswana demonstrou que baixos níveis iniciais de hemoglobina era um preditor significativo para incidência de tuberculose nestes pacientes.²⁹

Existem alterações de caráter multifatorial que levam o indivíduo infectado pelo HIV a apresentar anemia, tais como, aplasia medular, deficiência na produção de eritropoetina e deficiência nutricional.³⁰

Outro fator de alteração hematológica está associado ao uso da zidovudina (AZT), a primeira droga utilizada, a partir de 1987, no tratamento antirretroviral, que atualmente ainda é utilizada com uso restrito. A anemia por esta causa foi associada à anemia megaloblástica, pois proporcionava dificuldades na absorção de cobalamina e ácido fólico.¹⁸

Deve ser realizado, então, o rastreio rotineiro para diagnóstico de anemia e seu tratamento, a fim de reduzir a morbidade das PVHA.

4. Colesterol total, HDL e triglicérides

As proteínas de baixa densidade (HDL - *High Density Lipoproteins*) são representadas como um tipo de colesterol fundamental para o bom funcionamento do

organismo e sua baixa concentração sérica pode ser utilizada como um marcador de atividade inflamatória crônica. Os triglicérides são a combinação de glicerol, com ácidos, em sua maioria ácidos graxos, que em níveis elevados pode comprometer o sistema cardiovascular. É sabido que PVHA apresentam dislipidemia, uma vez que a produção de citocinas ligadas à resposta imune altera o metabolismo das lipoproteínas levando ao aumento no índice de triglicérides e diminuição do HDL e do colesterol total, o que pode ter influência também do uso da TARV.³¹

Savès et al.³² apontam que a contagem baixa de linfócitos T CD4⁺ no sangue periférico está ligada ao aumento na dosagem de triglicérides e menor nível de colesterol total, enquanto a diminuição do HDL não foi relacionada com essas contagens. O perfil lipídico ajuda, portanto a determinar se a atividade inflamatória está sendo controlada.

5. Proteína C reativa (PCR)

A proteína C reativa (PCR) é uma proteína produzida no fígado, comumente utilizada como marcador de infamação em PVHA e, quando em níveis elevados, deve-se atentar para riscos cardiovasculares. Triant et al.³³, em estudo realizado nos EUA, demonstraram que aumento dos níveis de PCR quando associado à infecção pelo HIV, aumenta em aproximadamente duas vezes o risco de infarto agudo do miocárdio.

Embora a carga viral plasmática em pacientes com HIV diminua após a fase de infecção aguda, a ativação imune persiste no estágio crônico da doença. Nessa fase, notam-se níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1, IL-6, levando conseqüentemente à elevação da PCR. O uso de TARV ameniza este quadro, devido à supressão viral.³³

No entanto, Girard et al.³⁴ analisaram 19 indivíduos não respondedores imunológicos e 12 respondedores, ambos os grupos com carga viral indetectável, e através de imunofenotipagem completa dos linfócitos periféricos e mucosos, conseguiram demonstrar que pacientes não respondedores imunológicos apresentavam viremia residual indetectável. A replicação viral residual está fortemente associada à persistência de inflamação em PHVA, podendo ser causada também pela presença de alguns vírus, tais como, o citomegalovírus e o herpes simples.

Sendo assim, a PCR tem grande relevância na prática clínica para avaliação da atividade inflamatória em PVHA, principalmente para pacientes não respondedores imunológicos.

6. Creatinina

A creatinina é o produto da quebra da creatina fosfato, que por sua vez é filtrada e excretada pelo rim e quando não excretada eleva seu nível sérico, sendo assim, um marcador para a função renal. PVHA são mais susceptíveis ao declínio da função renal visto que há ação direta do vírus nos glomérulos e túbulos renais.³⁵

Além disso, a queda das células T CD4⁺ e elevada carga viral do HIV também são consideradas fatores de risco para alteração da função renal. Estudo realizado em Washington (EUA) demonstrou que os maiores índices de doença renal foram observados em pacientes com elevada carga viral, sugerindo que a supressão precoce da mesma poderia diminuir sua incidência.³⁶

Há ainda nefrotoxicidade causada pelo tenofovir que também pode desencadear doenças renais em PHVA, o que acomete com maior frequência os idosos, com baixo peso ou que apresentam algum distúrbio metabólico, sendo necessário acompanhamento integral e adequado desses pacientes.^{35,37}

7. Sistema imune adaptativo

A resposta imunológica adquirida diferencia-se em dois tipos: imunidade humoral e imunidade mediada por células. A imunidade humoral é realizada por anticorpos, globulinas glicoproteicas denominadas imunoglobulinas (Ig) que são produzidas pelos linfócitos B.³⁸

Na espécie humana são encontrados cinco tipos de imunoglobulinas: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. As imunoglobulinas podem ser benéficas, reconhecendo especificamente os antígenos e neutralizando-os por meio de vários mecanismos de defesa contra agentes extracelulares e suas toxinas, ou podem ter efeitos maléficos causando alergias e anafilaxias.^{39,40}

Já imunidade celular é mediada pelos linfócitos T que se diferenciam de acordo com sua função celular⁴¹, como abordado nos subitens a seguir.

7.1 Leucócitos e linfócitos totais

O leucograma avalia os leucócitos totais, entre eles os neutrófilos, linfócitos totais, monócitos, eosinófilos e basófilos. As PHVA adultas podem apresentar na fase primária da infecção, linfopenia seguida por linfocitose e durante a fase assintomática apresentam pancitopenia com neutropenia e, autores sugerem que esse quadro pode ser mascarado pelo aumento de T CD8⁺.⁴²

Araújo & Costa ⁴³ demonstraram em casuística brasileira que até 45% das PVHA são leucopênicos, porém nem todos os autores compartilham do mesmo achado. Assim, Wankah et al.⁴⁴, em estudo realizado no Hospital de Ensino da Universidade de Yaounde, em Camarões, não observaram alterações nas contagens totais de leucócitos e linfócitos. Para esses autores essa variação pode ocorrer de acordo com o grupo de estudo, pois pode haver interferência de sexo e raça, pelo fato de mulheres e negros possuírem naturalmente contagens mais baixas de leucócitos.

7.2 Linfócitos T

Os linfócitos são os principais efetores da imunidade celular e são produzidos na medula óssea e posteriormente sofrem maturação no timo. O timo é um órgão linfoide primário e é nele que os linfócitos T adquirem seus receptores de membrana específicos.⁴⁵

O processo de maturação dos linfócitos T no timo envolve a expressão de um receptor específico de células T denominado TCR (do inglês *T cell receptor*) e das moléculas CD4⁺ e/ou CD8⁺, que são expressos na membrana dessas células. Uma vez que os antígenos são processados há expressão da molécula de complexo maior de histocompatibilidade (MHC) na superfície da célula apresentadora de antígeno que se liga ao TCR promovendo a resposta imune.^{45,46}

O TCR permite aos linfócitos T uma grande variedade de reconhecimento de antígenos por meio do processo de recombinação somática mediado pelas enzimas RAG1 e RAG2. Durante essa recombinação de diferentes genes, o trecho intercalante de DNA situado entre os genes que se unem é removido, dando origem a uma molécula circular de DNA denominada *T-cell receptor excision circle* (TREC), célula apresentadora de antígeno que se liga ao TCR, o que também promove resposta imune.^{45,46}

Há vários subgrupos de linfócitos T, nomeadamente os linfócitos T auxiliares CD4⁺ (*helper*), citotóxicos CD8⁺, memória, reguladores e *natural killer* (NK).⁴⁷

7.3 Linfócitos T CD4⁺

Os linfócitos T CD4⁺ ou T *helper* (Th) possuem receptores em sua superfície a fim de reconhecer as células apresentadoras de antígenos e, quando ativados secretam citocinas, que promovem o crescimento e a diferenciação da função dos linfócitos B e de outras células. Existem subgrupos desses linfócitos que podem ser definidos pelo tipo de citocinas que secretam, sendo um dos principais fenótipos Th, o Th1, o Th2 e o Th17.⁴⁸

Mas, antes de se tornarem Th1, Th2 ou Th17, esses linfócitos ficam em estado de quiescência, sendo denominados Th0 - virgens. Até esse momento, o único papel do Th0 é produzir a interleucina (IL)-2 e expressar seus receptores, sendo sua grande função estimular expansão clonal dessas células. O principal efeito da IL-2 é autócrino, ou seja, age na própria célula que a está secretando. Depois de receber estímulos da APC, os linfócitos T virgens passam para a circulação e se diferenciam.

48,49

Além desses subtipos descritos, há também os linfócitos T regulatórios (Treg) que representam uma subpopulação de linfócitos T com propriedades anti-inflamatórias.⁵⁰

Atualmente, as células Treg são divididas em dois grupos: as naturais e as adaptativas. As naturais expressam CD25⁺ como molécula de superfície, sendo denominadas como linfócitos TCD4⁺CD25⁺.⁵¹

Já as células Treg adaptativas são geradas na periferia e exercem sua função supressora a partir da liberação de citocinas, como IL-10 e TGF-β.⁵¹

As Treg são produzidas naturalmente nos corpúsculos de Hassal no timo e representam 5% a 10% das células T CD4⁺ periféricas.⁵²

Em relação ao HIV, as células Treg possuem grande interesse devido a suas capacidades imunossupressoras. O número absoluto de Treg diminui com a progressão da doença, mas durante a TARV esse número tende a aumentar.⁵³

Algumas das principais funções do linfócito T CD4⁺ são estimulação do crescimento e proliferação de linfócitos T citotóxicos e supressores contra o antígeno,

além da estimulação do crescimento e diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos para produção de anticorpos contra o antígeno, ativação das APC e autoestimulação.⁵⁴

Abaixo, na figura 1, pode-se visualizar como é feita a apresentação do antígeno para os linfócitos T CD4⁺.

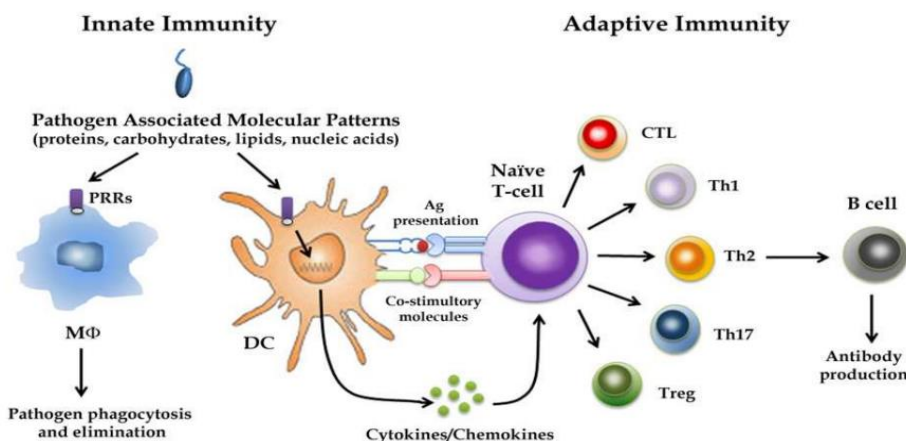


Figura1: Apresentação de antígeno para linfócito T CD4

Fonte: Neves BL, Maria, CM. Pathogen Strategies to Evade Innate Immune Response: A Signaling Point of View. Research Gate. Jun 2012

7.4 Linfócitos T CD8⁺

O linfócito T CD8⁺ também é conhecido como linfócito T citotóxico e, quando algum antígeno é exibido por células tumorais, células infectadas por vírus ou por bactérias intracelulares, o linfócito T CD8⁺ é ativado.⁵⁴

O CD8⁺ libera citotoxinas, tais como, perforinas, granzimas e granulinas. Essas enzimas entram no citoplasma da célula-alvo e desencadeiam uma cascata de eventos que leva à apoptose da célula alvo.⁵⁴

8. Contagem de T CD4⁺ e T CD8⁺

Com o advento da citometria de fluxo foi possível estabelecer as faixas de subconjuntos de linfócitos T CD3⁺, CD4⁺ e CD8⁺ por fluorescências. Esse método de contagem principalmente dos linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ foi essencial para auxiliar no controle de tratamento da infecção pelo HIV/aids.⁵⁵

Prevê-se que PVHA com acesso à TARV devem ser capazes de suprimir a replicação do vírus, que leva consequentemente ao aumento das células CD4⁺, o que

está fortemente associado à redução da morbidade e mortalidade desses indivíduos.^{55,56}

PVHA com baixas contagens de linfócitos T CD4⁺ estão mais suscetíveis a doenças cardiovasculares, renais, hepáticas, neurológicas e ósseas, bem como cânceres.⁵⁶

Durante a infecção pelo HIV não tratada, as contagens de T CD8⁺ aumentam à medida que a contagem de T CD4⁺ diminui. Quadro semelhante também está presente em adultos idosos não infectados pelo HIV, sendo que a inversão da relação CD4⁺/CD8⁺ é um marcador preditor de senescência das células T, que pode levar ao aumento na taxa de mortalidade.^{55,56}

9. Objetivos

O objetivo geral do estudo foi avaliar os marcadores clínicos e laboratoriais que auxiliam na predição de não respondedores imunológicos.

Os objetivos específicos foram:

- Caracterizar os participantes quanto às contagens de T CD4⁺, T CD8⁺, relação CD4⁺/CD8⁺ e quantificações de cargas virais plasmáticas do HIV, pré-tratamento, seis, 12, 24 e 36 meses após a carga viral tornar-se indetectável.
- Caracterizar os participantes quanto às atividades inflamatória e metabólica, pré-tratamento, seis 12, 24 e 36 meses após a carga viral tornar-se indetectável.

II. CASUISTICA E MÉTODOS

1. Delineamento do estudo

Tratou-se de estudo caso - controle de coorte longitudinal retrospectiva, em amostra de conveniência, sendo incluído um paciente não respondedor imunológico para um paciente do grupo controle (1/1).

2. Local do estudo

O estudo foi realizado no Serviço de Ambulatórios Especializados de Infectologia “Domingos Alves Meira” (SAEI-DAM) que é centro de referência regional para atendimento da infecção pelo HIV/aids em Botucatu e cidades vizinhas. É também palco de ensino e pesquisa, unidade própria da Fundação para o Desenvolvimento Médico e Hospitalar (FAMESP), Organização Social de Saúde, que mantém vínculos com a Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB)-UNESP e com o Hospital das Clínicas da FMB (HCFMB). Esse complexo é responsável pelo atendimento de 1,8 milhão de pessoas, de 68 municípios do centro-oeste paulista, mas, principalmente, dos 30 municípios da região de Botucatu, o que corresponde a cerca de 600 mil habitantes. O SAEI-DAM atende atualmente cerca de 1.000 pacientes infectados pelo HIV/aids.

3. Período do estudo

O período do estudo foi definido a partir da implantação do sistema eletrônico de prontuários médicos no Serviço, tendo sido, então, incluídos os pacientes atendidos de junho de 2012 a junho de 2018.

4. Casuística

Foram avaliados 502 prontuários de indivíduos adultos, de ambos os sexos, infectados pelo HIV/aids, que frequentavam o Serviço de Ambulatórios Especializados

de Infectologia “Domingos Alves Meira” (SAEI-DAM). De acordo com os critérios de inclusão e exclusão foram estudados 52 pacientes.

5. Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão foram ter idade igual ou superior a 18 anos, infecção confirmada pelo HIV, estar em uso regular do primeiro esquema de TARV por no mínimo 12 meses e iniciado no período de junho de 2012 a dezembro de 2018, ter carga viral do HIV abaixo do limite de detecção (40 cópias/mL) após tratamento e contagem de T CD4+ abaixo de 350 células/mm³ no momento pré-tratamento.

Os critérios de exclusão foram os indivíduos com carga viral do HIV acima do limite de detecção após início de TARV e gestantes. Além disso, foram excluídos os pacientes com hepatite C, infecções oportunistas graves, que correspondessem à fase avançada da doença do HIV, teste não treponêmico, VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*), para pesquisa de sífilis maior do que 1/8 e indivíduos que se infectaram por meio de transmissão vertical.

6. Grupos de estudo

A casuística foi dividida em dois grupos de estudo:

Grupo 1 (G1): composto por 26 pacientes não respondedores imunológicos.

Grupo 2 (G2): composto por 26 pacientes com resposta imunológica adequada ao tratamento.

As avaliações foram realizadas em cinco momentos: pré-tratamento e, depois com seis, 12, 24 e 36 meses de tratamento, sendo que até os 12 meses foram avaliados os 26 pacientes de cada grupo. A partir daí, foram incluídos últimos parâmetros laboratoriais de cada paciente, sendo que com 24 meses de TARV, eram 12 pacientes no G1 e 10 no G2 e com 36 meses, eram 14 no G1 e 16 no G2.

7. Coleta de dados

Os dados clínicos e laboratoriais foram coletados pela própria pesquisadora por análise de prontuários médicos em sistema eletrônico. Foram selecionadas para estudo as seguintes variáveis: dosagens de creatinina, colesterol total e fração HDL, triglicérides, proteína C reativa, hemoglobina, leucócitos e linfócitos totais, linfócitos T CD4⁺, T CD8⁺ e relação CD4⁺/CD8⁺ e quantificação da carga viral plasmática do HIV.

Todos esses exames são solicitados e realizados na rotina do atendimento de pacientes infectados pelo HIV/aids no Serviço, de acordo com as recomendações do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos¹⁸, do Ministério da Saúde do Brasil.

As contagens de linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ foram realizadas no Laboratório de Citometria de Fluxo do Hemocentro de Botucatu-UNESP. Para tanto, alíquotas de 50µL de sangue total foram, incubadas com anticorpos monoclonais de interesse, marcados com fluorocromos. Após marcação, as hemácias presentes foram lisadas. A aquisição e análise dos dados foi realizada no programa *Multiset*TM, empregando-se diferentes estratégias de análises. Os resultados foram expressos em valores relativos (percentuais) e absolutos de células por mm³.

As quantificações das cargas virais plasmáticas do HIV foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro de Botucatu-UNESP. As cópias de RNA plasmático de HIV-1 foram medidas por PCR *real time* (*Polymerase chain reaction quantitative real time*) de acordo com as instruções do fabricante. Este ensaio tem limite de detecção de 40 cópias de RNA de HIV-1/mL.

Para os resultados das contagens de linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ e das determinações das CV plasmáticas do HIV de cada indivíduo foi consultado o Sistema de Controle de Exames Laboratoriais (SISCEL) do Ministério da Saúde, no qual são cadastrados os resultados desses exames.

As dosagens dos exames bioquímicos foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do HCFMB-UNESP e os hematológicos, no Laboratório de Hematologia do Hemocentro de Botucatu-UNESP, todos determinados por aparelhos automatizados. Os valores de referência para cada exame foram: colesterol, até 200 mg/dl; HDL colesterol, de 40 a 60 mg/dl; proteína C reativa, até 0,8 mg/dl; hemoglobina

12,0 a 16,0 g/dL para mulheres e 13,0 a 18,0 g/dL para homens; leucócitos totais, de 4.500 a 11.000/mm³, linfócitos totais, de 20% a 40% do total de leucócitos.

A creatinina foi utilizada para calcular a taxa de filtração glomerular por meio da fórmula CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*). Com a finalidade de simplificar os cálculos e evitar erros, foi utilizado o aplicativo da Sociedade Brasileira de Nefrologia, que possibilita a inserção dos dados e obtenção automática dos resultados. Para categorização da CKD-EPI, foram considerados os estágios 1, ≥ 90 ; 2, entre 60 e 89; 3, 30 a 59; 4, 15 a 29; 5, <15 mL/min/1,73 m² ou em diálise.

Em relação à TARV, o esquema utilizado para cada paciente foi indicado pelos médicos assistentes do Serviço.

8. Análise estatística

Os dados obtidos foram digitados em planilha Excel para posterior análise.

Inicialmente foi realizada análise descritiva com cálculo de médias e desvios padrão para as variáveis quantitativas e frequências e percentuais para as variáveis categorizadas estratificadas por grupo.

A comparação de médias entre variáveis quantitativas para grupos foi feita utilizando teste *t-Student* para aquelas com distribuição simétrica. As que apresentaram distribuição assimétrica, a comparação foi feita utilizando um ajuste em distribuição gama, seguido do teste de comparação múltipla de Wald.

Para as variáveis T CD4⁺ e T CD8⁺, por serem contagens e obtidas em cinco momentos, foi utilizado delineamento em medidas repetidas ajustando uma distribuição binomial negativa (contagens com extra variação) e avaliados a interação grupo *versus* momento, seguido do teste de Wald para essa interação. Para as variáveis bioquímicas, o mesmo delineamento foi utilizado para testar a interação grupo *versus* momentos apenas usando ANOVA, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey, para aquelas com distribuição simétrica e um ajuste em distribuição gama, seguido do teste de Wald para as com distribuição assimétrica.

As associações entre grupos e variáveis categorizadas foram feitas utilizando o teste qui-quadrado. Para as variáveis com mais de duas categorias,

as diferenças entre as proporções foram feitas utilizando um teste para este fim (teste análogo ao teste qui-quadrado).

Em todos os testes foi fixado o nível de significância de 5% ou o p-valor correspondente. Todas as análises foram feitas pelo programa SAS for Windows, v.9.4.

O estudo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FMB-UNESP, que, por se tratar de estudo retrospectivo, foi dispensado a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 1).

III. Resultados

1. Caracterização dos pacientes estudados

A caracterização da casuística encontra-se na tabela 1. Dos 52 pacientes participantes do estudo, 42 (80,7%) eram do sexo masculino, não havendo diferença na comparação entre os dois grupos ($p=0,3$).

As médias de idades dos pacientes do G1 e do G2 foram, respectivamente, 42,6 ($\pm 13,5$) e 41,3 ($\pm 11,5$), com variações de 35 a 55 anos, não havendo diferenças ($p= 0,64$) entre os grupos.

As médias de cargas virais no pré-tratamento para G1 foram de 5,41 e para G2 de 5,40 em \log_{10} (cópias de RNA/mL), não havendo diferença ($p=0,16$) entre os grupos.

Observou-se diferenças na comparação entre os grupos quanto às contagens de T CD4+ ($p<0,0001$) e à relação TCD4+/TCD8+ ($p=0,004$), sendo menores em indivíduos de G1.

A combinação do esquema antirretroviral dos pacientes foi composta por três medicamentos, sendo pelo menos de duas classes diferentes. Assim, foram utilizados três esquemas compostos da seguinte forma: dois inibidores da transcriptase reversa, análogos de nucleosídeos (ITRN) + dolutegravir/raltegravir, dois ITRN + efavirenz e dois ITRN + um inibidor de protease associado ao ritonavir (IP/r). Na comparação dos esquemas antirretrovirais utilizados não houve diferença entre os dois grupos.

TABELA 1 – Categorização dos 52 pacientes infectados pelo HIV/aids, quanto ao sexo, idade, carga viral, linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺, relação CD4⁺/CD8⁺ iniciais e terapia antirretroviral e os grupos de estudo. Botucatu, 2019.

<i>Variáveis</i>	<i>Categorias</i>	<i>G1</i>	<i>G2</i>	<i>P valor</i>
<i>Sexo – N (%)</i>				
	Masculino	21 (80,7%)	21 (80,7%)	0,3
	Feminino	05 (19,3%)	05 (19,3%)	
<i>Idade - Média ± DP</i>		42,6 ± 13,5	41,3 ± 11,5	0,64
<i>Carga viral - Média ± DP</i>		260.129± 348.971	248.369 ± 482.140	0,16
<i>T CD4⁺ inicial - Média ± DP</i>		95,4 ± 76,1	215,1 ± 105,1	<0001
<i>T CD8⁺ inicial - Média ± DP</i>		968,7 ± 662,4	1100,6 ± 778,4	0,41
<i>Relação CD4⁺/CD8⁺</i>		0,11 ± 0,09	0,25 ± 0,01	0,004
<i>Medicação – N (%)</i>				
<i>2 ITRN + EFZ</i>		11 (21,3%)	16 (30,7%)	0,6
<i>2 ITRN + DTG/RAL</i>		12 (23,8%)	06 (11,5%)	0,5
<i>2 ITRN + IP/r</i>		03 (5,7%)	04 (7,8%)	0,3

G1: 26 pacientes não respondedores imunológicos. G2: 26 pacientes com resposta imunológica adequada ao tratamento. DP: Desvio padrão. ITRN: inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos. EFZ: efavirenz. DTG: dolutegravir. RAL: raltegravir. IP/r: inibidor de protease associado ao ritonavir.

2. Exames laboratoriais

Na avaliação das contagens de linfócitos T CD4⁺, T CD8⁺ e relação CD4⁺/CD8⁺ realizadas nos cinco momentos, observou-se diferenças nas comparações entre os grupos em todos os momentos para linfócitos T CD4⁺ e para relação T CD4⁺/CD8⁺, houve semelhança somente nos controles de 36 meses, sendo mais baixos em G1, conforme mostrado na Tabela 2.

Dentro de cada grupo, houve diferença na comparação da evolução de T CD4⁺ até 24 meses em G1, o que também ocorreu em G2, entre os momentos iniciais e seis meses e entre 24 e 36 meses. E, em relação às contagens de linfócitos T CD8⁺, não foram observadas diferenças nas comparações entre os grupos, nem entre os momentos em cada grupo.

TABELA 2 – Comparação de linfócitos T CD4⁺, T CD8⁺ e relação CD4⁺/CD8⁺, de acordo com as evoluções pré-tratamento, 06, 12, 24 e 36 meses após o início do tratamento dos 52 pacientes infectados pelo HIV/aids e os grupos de estudo. Botucatu, 2019.

T CD4⁺	G1 (Média ± DP)	G2 (Média ± DP)
Inicial	95,4 ± 76,1 ^{aB}	215,1 ± 105,1 ^{aA}
6 meses	180,7 ± 77,3 ^{bB}	438,2 ± 160,3 ^{bA}
12 meses	211,8 ± 69,3 ^{cB}	468,6 ± 123,6 ^{bA}
24 meses	246,2 ± 70,9 ^{dB}	471,8 ± 49,7 ^{bA}
36 meses	250 ± 61,6 ^{dB}	573,9 ± 171,6 ^{cA}
T CD8⁺	G1 (Média ± DP)	G2 (Média ± DP)
Inicial	968,7 ± 686,7 ^{aA}	1100,6 ± 778,4 ^{aA}
6 meses	1115,4 ± 482,9 ^{aA}	1314,8 ± 791,5 ^{aA}
12 meses	1100,4 ± 554,5 ^{aA}	1254,9 ± 657,1 ^{aA}
24 meses	1060,2 ± 420,1 ^{aA}	1180,4 ± 625,0 ^{aA}
36 meses	916,6 ± 605,2 ^{aA}	1136,1 ± 471,2 ^{aA}
Relação CD4⁺/CD8⁺	G1 (Média ± DP)	G2 (Média ± DP)
Inicial	0,11 ± 0,09 ^{aB}	0,25 ± 0,16 ^{aA}
6 meses	0,21 ± 0,15 ^{bB}	0,47 ± 0,33 ^{bA}
12 meses	0,25 ± 0,16 ^{cB}	0,50 ± 0,30 ^{bA}
24 meses	0,30 ± 0,16 ^{cB}	0,53 ± 0,25 ^{bA}
36 meses	0,44 ± 0,31 ^{dA}	0,64 ± 0,43 ^{cA}

G1: 26 pacientes não respondedores imunológicos. G2: 26 pacientes com resposta imunológica adequada.
 DP: Desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra maiúscula (fixando momentos) não diferem para $p < 0,05$.
 Médias seguidas da mesma letra minúscula (fixando grupos) não diferem para $p < 0,05$.

Os resultados da fórmula CKD-EPI para análise da taxa de filtração glomerular mostraram que em ambos os grupos, a maioria dos pacientes estava no estágio 1, não havendo diferença na comparação entre os grupos em relação aos momentos estudados (Tabela 3).

Na análise das sorologias para pesquisa do citomegalovírus, 100% dos pacientes apresentaram IgG reagente em ambos os grupos, tendo sido a IgM reagente em 5,7% no G1 e em 3,8% no G2, não havendo diferenças entre os grupos.

TABELA 3 – Comparação da taxa de filtração glomerular (fórmula CKD-EPI), de acordo com as evoluções pré-tratamento, 06, 12, 24 e 36 meses após o início do tratamento, dos 52 pacientes infectados pelo HIV/aids e os grupos de estudo. Botucatu, 2019.

Grupos	Momentos	Estágios N (%)			
		Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3	Estágio 4
G1	Inicial	14 (26,9%)	09 (17,3%)	03 (5,7%)	00 (0%)
	6 meses	18 (34,6%)	04 (7,6%)	03 (5,7%)	01 (1,9%)
	12 meses	15 (28,8%)	09 (17,3%)	01 (1,9%)	01 (1,9%)
	24 meses	06 (27,7%)	05 (22,7%)	01 (4,5%)	00 (0%)
	36 meses	10 (33,3%)	03 (10%)	01 (3,3%)	00 (0%)
	G2	Inicial	17 (32,6%)	09 (17,3%)	00 (0%)
6 meses	19 (36,5%)	07 (13,4%)	00 (0%)	00 (0%)	
12 meses	18 (34,6%)	08 (15,3%)	00 (0%)	00(0%)	
24 meses	06 (27,7%)	04 (18,1%)	00 (0%)	00 (0%)	
36 meses	09 (30%)	07 (23,3%)	00 (0%)	00 (0%)	

G1: 26 pacientes não respondedores imunológicos. G2: 26 pacientes com resposta imunológica adequada ao tratamento. Estágios 1: ≥ 90 ; estágio 2: 60 a 89; estágio 3: 30 a 59; estágio 4: 15 a 29. Teste t de *student*: G1=G2

Os resultados das médias das dosagens séricas de colesterol total, HDL, triglicérides, PCR, bem como, as hematológicas, de hemoglobina, leucócitos e linfócitos totais estão expostos na Tabela 4.

Na análise do colesterol, observou-se diferença na comparação entre grupos somente com 12 meses após início da TARV, sendo maior média no G2, não havendo diferenças, quando fixados os momentos.

Em relação ao HDL não foram observadas diferenças na comparação entre os grupos em nenhum dos momentos estudados. Porém, ao analisar a evolução entre os momentos houve diferenças quando comparados entre seis e 36, 12 e 24, 12 e 36, e 24 e 36 meses.

Para os triglicérides foram observadas diferenças, na comparação entre os grupos, no momento inicial e com seis meses, sendo maiores em G2 e, quando fixados os momentos, houve diferença em G2, com dosagens mais elevadas após seis meses em relação ao pré-tratamento.

Quando avaliada a PCR, observaram-se diferenças tanto quando fixados os momentos quanto na comparação entre os grupos. Assim, em G1 as dosagens da PCR foram mais elevadas em relação a G2, em todos os momentos, exceto com 24

meses da terapia. Ainda em G1 quando analisados os momentos dentro de cada grupo, houve queda nas dosagens de PCR do momento inicial para seis meses, não havendo diferença entre os demais momentos. Em relação ao G2, não houve diferenças nas comparações dos momentos de estudo. (Figura 2)

A análise dos leucócitos totais, na comparação entre os grupos, mostrou que houve diferenças visto que os participantes de G1 apresentaram menores contagens dessas células, em relação a G2. Quando fixados os momentos, não houve diferenças em G2, porém em G1, houve aumento de leucócitos do período inicial para seis meses e, deste para 12 meses do início do tratamento.

Na avaliação dos linfócitos totais, houve diferenças entre os grupos, em todos os momentos, sendo menores contagens em G1, exceto com 24 meses (G1=G2). Quando fixados os momentos, foram observadas diferenças somente em G2, na comparação entre o momento pré-tratamento com 24 e 36 meses.

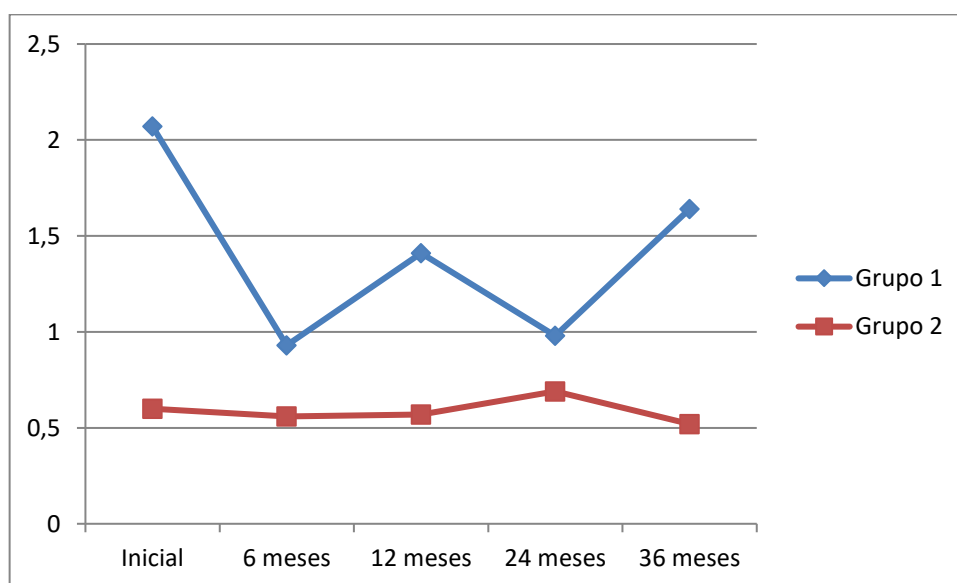


Figura 2 – Evolução dos exames de proteína C reativa (PCR), de acordo com os momentos pré-tratamento, 06, 12, 24 e 36 meses após o início do tratamento antirretroviral dos 52 pacientes infectados pelo HIV/aids e os grupos de estudo. Botucatu, 2019.

TABELA 4 – Comparação dos exames bioquímicos e hematológicos, de acordo com as evoluções pré-tratamento, 06, 12, 24 e 36 meses após o início do tratamento dos 52 pacientes infectados pelo HIV/aids e os grupos de estudo. Botucatu, 2019.

Variável	Momento	G1 (Média ± DP)	G2 (Média ± DP)
Colesterol			
	Inicial	155,8 ± 51,2 ^{Aa}	179,7 ± 39,5 ^{aA}
	06 meses	170,6 ± 38,7 ^{aA}	191,15 ± 37,9 ^{aA}
	12 meses	167,6 ± 38,9 ^{aB}	189,2 ± 32,9 ^{aA}
	24 meses	159,6 ± 37,9 ^{aA}	173,3 ± 33,9 ^{aA}
	36 meses	173,1 ± 37,3 ^{aA}	190,1 ± 33,7 ^{Aa}
Variável	Momento	G1 (Média ± DP)	G2 (Média ± DP)
HDL			
	Inicial	36,8 ± 15,1 ^{aA}	44,7 ± 23,7 ^{abA}
	06 meses	44,9 ± 16,4 ^{aA}	46,6 ± 17,5 ^{abA}
	12 meses	40,9 ± 12,9 ^{aA}	48,8 ± 16,9 ^{Aa}
	24 meses	41,2 ± 11,7 ^{aA}	39,3 ± 11,6 ^{abA}
	36 meses	46,2 ± 18,2 ^{aA}	55,8 ± 24,4 ^{cA}
Variável	Momento	G1 (Média ± DP)	G2 (Média ± DP)
Triglicérides			
	Inicial	122,3 ± 63,5 ^{aB}	160,3 ± 73,9 ^{aA}
	06 meses	128,8 ± 74,3 ^{aB}	207,3 ± 137,9 ^{bA}
	12 meses	135,3 ± 71,9 ^{aA}	165,2 ± 83,5 ^{aA}
	24 meses	119,3 ± 53,0 ^{aA}	152,1 ± 79,5 ^{aA}
	36 meses	119,2 ± 44,1 ^{aA}	154,5 ± 89,8 ^{aA}
Variável	Momento	G1 (Média ± DP)	G2 (Média ± DP)
PCR			
	Inicial	2,1 ± 1,7 ^{aB}	0,6 ± 0,2 ^{aA}
	06 meses	0,9 ± 1,2 ^{bB}	0,5 ± 0,1 ^{aA}
	12 meses	1,4 ± 1,9 ^{bB}	0,5 ± 0,1 ^{aA}
	24 meses	1,0 ± 1,4 ^{bA}	0,6 ± 0,4 ^{aA}
	36 meses	1,6 ± 1,5 ^{bB}	0,5 ± 0,8 ^{aA}
Variável	Momento	G1 (Média ± DP)	G2 (Média ± DP)
Leucócitos totais			
	Inicial	4.200 ± 1.700 ^{aB}	5.700 ± 1.100 ^{aA}
	06 meses	4.500 ± 1.200 ^{bB}	5.800 ± 1.300 ^{aA}
	12 meses	5.200 ± 1.500 ^{cB}	6.300 ± 1.300 ^{aA}
	24 meses	5.100 ± 1.300 ^{cB}	6.800 ± 2.200 ^{aA}
	36 meses	6.000 ± 1.900 ^{cA}	6.700 ± 1.400 ^{aA}
Variável	Momento	G1 (Média ± DP)	G2 (Média ± DP)
Linfócitos totais			
	Inicial	1.270 ± 436 ^{aB}	2.120 ± 558 ^{aA}
	06 meses	1.525 ± 355 ^{aB}	1.963 ± 684 ^{aA}
	12 meses	1.638 ± 338 ^{aB}	2.286 ± 604 ^{aA}
	24 meses	1.642 ± 402 ^{aA}	2.046 ± 659 ^{bA}
	36 meses	1.602 ± 528 ^{aB}	2.190 ± 576 ^{bA}
Variável	Momento	G1 (Média ± DP)	G2 (Média ± DP)
Hemoglobina			
	Inicial	13,3 ± 1,9 ^{aB}	14,2 ± 1,5 ^{aA}
	06 meses	14,2 ± 1,5 ^{aA}	14,8 ± 1,0 ^{bA}
	12 meses	14,2 ± 1,4 ^{aA}	15,0 ± 1,3 ^{bA}
	24 meses	14,2 ± 1,6 ^{aA}	14,6 ± 1,6 ^{bA}
	36 meses	14,2 ± 2,2 ^{aA}	14,8 ± 1,0 ^{bA}

G1: 26 pacientes não respondedores imunológicos. G2: 26 pacientes com resposta imunológica adequada.

DP: Desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra maiúscula (fixando momentos) não diferem para $p < 0,05$. Médias seguidas da mesma letra minúscula (fixando grupos) não diferem para $p < 0,05$.

Na avaliação da hemoglobina, houve diferenças somente no pré-tratamento, sendo que as menores dosagens foram encontradas em G1. Quando comparados os momentos dentro de cada grupo, não houve diferenças no G1, mas houve em G2 entre o momento inicial e seis meses, com menores dosagens no primeiro.

Foi avaliada também, a proporção de indivíduos com alterações para cada variável hematológica e bioquímica em relação aos grupos e aos momentos evolutivos, conforme mostrado na Tabela 5.

Observou-se que não houve diferenças na comparação entre os dois grupos, em relação ao HDL baixo, notando-se elevada proporção de indivíduos com essa alteração nos dois grupos, em todos os momentos estudados. O mesmo foi encontrado em relação a triglicérides. Para hemoglobina baixa, aumento de leucócitos, bem como, para aumento ou diminuição de linfócitos totais não houve diferenças na comparação entre os grupos.

TABELA 5 – Distribuição dos 52 pacientes infectados pelo HIV/aids, de acordo com as alterações dos exames bioquímicos e hematológicos, em relação aos grupos de estudo e às evoluções pré-tratamento, 6, 12, 24 e 36 meses após o início do tratamento. Botucatu, 2019.

Variável	Momento	G1	G2	Valor P
Colesterol aumentado	Inicial	2 (7,6%)	9 (34,6%)	0,04
	6 meses	6 (23,0%)	10 (38,4%)	NS
	12 meses	4 (15,3%)	9 (34,6%)	NS
	24 meses	1 (8,3%)	2 (20,0%)	NS
	36 meses	2 (14,2%)	5 (31,2%)	NS
Variável	Momento	G1	G2	Valor P
HDL Baixo	Inicial	17 (65,3%)	15 (57,6%)	NS
	6 meses	11 (42,3%)	12 (46,1%)	NS
	12 meses	11 (42,3%)	7 (26,9%)	NS
	24 meses	7 (58,8%)	6 (60,0%)	NS
	36 meses	6 (42,8)	5 (31,2%)	NS
Variável	Momento	G1	G2	Valor P
Triglicérides, aumentados	Inicial	4 (15,3%)	8 (30,7%)	NS
	6 meses	6 (23,0%)	10 (38,4%)	NS
	12 meses	5 (19,2%)	8 (30,7%)	NS
	24 meses	1 (8,3%)	3 (30,0%)	NS
	36 meses	1 (7,1%)	6 (37,5%)	NS
Variável	Momento	G1	G2	Valor P
PCR aumentada	Inicial	16 (61,5%)	3 (11,5%)	0,0005
	6 meses	6 (23,0%)	3 (11,5%)	NS
	12 meses	11 (42,3%)	3 (11,5%)	0,02
	24 meses	2 (16,6%)	2 (20,0%)	NS
	36 meses	7 (50,0%)	1 (6,2%)	0,02
Variável	Momento	G1	G2	Valor P
Hemoglobina baixa	Inicial	14(53,8%)	7 (26,9%)	NS
	6 meses	9 (34,6%)	3 (11,5%)	NS
	12 meses	9 (34,6%)	4 (15,3%)	NS
	24 meses	4 (33,3%)	2 (20,0%)	NS
	36 meses	5 (35,5%)	3 (18,5%)	NS
Variável	Momento	G1	G2	Valor P
Leucócitos aumentados	Inicial	0 (0%)	0 (0%)	NS
	6 meses	0 (0%)	1 (3,8%)	NS
	12 meses	0 (0%)	0 (0%)	NS
	24 meses	2 (16,6%)	1 (10%)	NS
	36 meses	1 (7,1%)	0 (0%)	NS
Variável	Momento	G1	G2	Valor P
Leucócitos baixos	Inicial	17 (65,3%)	5 (19,2%)	0,002
	6 meses	13 (50,0%)	2 (7,6%)	0,002
	12 meses	7 (26,9%)	1 (3,8%)	NS
	24 meses	3 (25,0%)	1 (10,0%)	NS
	36 meses	2 (14,2%)	0 (0%)	NS
Variável	Momento	G1	G2	Valor P
Linfócitos aumentados	Inicial	5 (19,2%)	11 (42,3%)	NS
	6 meses	6 (23,0%)	7 (26,9%)	NS
	12 meses	2 (15,3%)	8 (30,7%)	NS
	24 meses	2 (16,6%)	1 (10,0%)	NS
	36 meses	1 (7,1%)	4 (25,0%)	NS
Variável	Momento	G1	G2	Valor P
Linfócitos baixos	Inicial	5 (19,2%)	1 (3,8%)	NS
	6 meses	0 (0%)	1 (3,8%)	NS
	12 meses	1 (7,6%)	1 (3,8%)	NS
	24 meses	0 (0%)	1 (10,0%)	NS
	36 meses	3 (21,4%)	0 (0%)	NS

G1: 26 pacientes não respondedores imunológicos. G2: 26 pacientes com resposta imunológica adequada. N(%): Número e porcentagem.

Pode-se observar que em G2 houve maior proporção ($p=0,04$) de participantes com aumento do colesterol, no pré-tratamento em relação a G1.

Houve diferença na comparação entre os grupos quanto ao aumento da PCR, que ocorreu em proporções maiores no G1 em relação ao G2, tanto no momento inicial ($p=0,0005$), quanto em 12 ($p=0,02$) e 36 ($p=0,02$) meses após o início do tratamento.

A leucopenia foi observada em maior proporção no G1 ($p=0,002$) para o momento inicial e seis meses após o tratamento.

IV. DISCUSSÃO

Com o advento e os avanços da TARV a morbimortalidade relacionada à infecção pelo HIV/aids tem diminuído cada vez mais, com consequente aumento da sobrevivência das PHVA. Podem-se observar diferentes repostas frente à infecção, exemplificado pelos controladores de elite que são capazes de manter níveis indetectáveis de carga viral plasmática do HIV por longos períodos ou até por toda a vida.⁵⁷

Não respondedores imunológicos podem ocorrer e mostram diferentes comportamentos frente ao tratamento específico, correspondendo de 8,0% a 24,0% das PHVA.⁵⁶ Estes mantêm, após o início da TARV, níveis de linfócitos T CD4⁺ abaixo de 350 células/mm³, apesar da carga viral plasmática indetectável.⁵⁸

No presente estudo foram avaliados 52 indivíduos infectados pelo HIV/aids, divididos em dois grupos, que se mostraram homogêneos quanto ao sexo, idade, contagens de linfócitos T CD4⁺ e de cargas virais do HIV no momento pré-tratamento.

Do total dos 52 pacientes, 80,7% eram homens, com médias de idades na faixa de 35 a 55 anos, o que se mostraram diferentes dos dados oficiais do Brasil¹⁸, em que no período de 2007 a junho de 2018 houve notificação de 68,6% de casos em homens, na faixa etária de 20 a 34 anos, menor do que a apresentada no presente estudo.

Apesar de ambos os grupos apresentarem contagens iniciais de linfócitos T CD4⁺ abaixo de 350 células/mm³, no estudo aqui apresentado, os indivíduos não respondedores imunológicos tiveram seus diagnósticos da infecção pelo HIV/aids mais tardios, considerando essas contagens, em relação ao grupo com resposta adequada, demonstrado pelas médias desses linfócitos que se encontravam abaixo de 100 no primeiro e acima de 200/mm³ no segundo grupo.

Diversos autores^{59,60,61} consideram que baixas contagens de linfócitos T CD4⁺ pré-tratamento são um dos fatores que levam à não resposta imunológica após início da TARV. Kelley et al.⁶² mostraram que grande proporção de pacientes que atrasam o início da terapia, levando a contagens de linfócitos T CD4⁺ abaixo de 200 células/mm³, não atingem a contagem normal dessas células, mesmo após uma década de TARV.

Nesse sentido, dados oficiais do Brasil ⁶³ mostram que apesar das campanhas e demais estratégias, a proporção de indivíduos com diagnóstico tardio ainda é alta, porém caiu de 31,0% em 2009 para 26,0% em 2014. Observou-se também que nesse mesmo período, houve aumento do diagnóstico e início de TARV em indivíduos com mais de 501 células CD4+/mm³, passando de 14,0% para 37,0% no mesmo período.

De forma semelhante, a média das cargas virais dos pacientes do presente estudo foi alta, acima de 5,0 log₁₀ em ambos os grupos, reforçando o diagnóstico tardio. Stirrup et al.⁶⁴ analisaram os fatores que prediziam a velocidade da recuperação das células T CD4⁺ em PHVA, quando os pacientes com maior carga viral basal iniciavam a TARV e observaram que logo nos primeiros quatro meses, a recuperação de linfócitos T CD4⁺ era menor quando comparados com aqueles que tinham cargas virais mais baixas e contagens de T CD4⁺ mais altas no pré tratamento.

Kaufmann et al.⁶⁵, em estudo longitudinal por mais ou menos cinco anos, analisaram 293 participantes, que foram incluídos com cargas virais plasmáticas do HIV abaixo de 1000 cópias/mL, sendo 35,8% deles não respondedores imunológicos. Por análise de regressão logística, os autores demonstraram que esse grupo apresentava infecção por HIV mais avançada no início do tratamento em relação ao grupo controle, no qual o aumento das contagens de células T CD4⁺ durante os primeiros seis meses de TARV já refletia a capacidade de recuperação do sistema imunológico.

Buzon et al.⁶⁶, em estudo realizado em Boston (EUA) e na Espanha, observaram a presença de reservatórios virais em pacientes que iniciaram TARV durante a infecção crônica. Foram incluídos 35 pacientes, dos quais nove iniciaram o tratamento nos primeiros seis meses após o contágio, durante a infecção primária, e 26 que iniciaram TARV com pelo menos dois anos de infecção. No primeiro grupo foi observada recuperação imediata dos níveis de linfócitos T CD4⁺ e da razão T CD4⁺/CD8⁺, sugerindo que o início da TARV durante a infecção primária poderia evitar a formação de reservatórios virais. Para tanto, os autores determinaram os níveis de DNA do HIV em subgrupos dos linfócitos T CD4⁺ e observaram que pacientes que iniciaram a TARV durante a fase inicial da infecção mantiveram os níveis de DNA mais baixos na maioria dos subgrupos de células.⁶⁷

A persistência da inflamação nos pacientes não respondedores imunológicos poderia ocorrer pela presença de reservatórios do HIV nas células, que não seriam eliminados com uso da TARV, apesar da supressão e controle viral.⁶⁸

Apesar de não ter havido diferença quanto à escolha do esquema inicial de TARV na comparação entre os grupos, a maioria dos pacientes não respondedores imunológicos utilizava dolutegravir e os do outro grupo, efavirenz. A escolha do tratamento é feita pelos médicos assistentes do Serviço.

Essas diferenças ocorreram pelas mudanças habituais e periódicas das recomendações do Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis, do Ministério da Saúde, que a partir de 2017 passou a indicar para esquemas iniciais o dolutegravir como terceira droga. Sabe-se que diferentes esquemas de medicamentos podem levar a diferentes respostas terapêuticas, o que não foi avaliado no presente estudo.⁶⁸

Foram observados aumentos nas contagens de linfócitos T CD4⁺ em quase todos os momentos no grupo de não respondedores imunológicos, porém a melhora foi bem mais evidente entre aqueles com resposta adequada, pois após 36 meses de TARV, os primeiros obtiveram média de 250 células/mm³, enquanto para os demais essa média foi de 573 células/mm³, no mesmo período de observação.

Quando analisada a relação CD4⁺/CD8⁺ foi possível observar baixas taxas nos dois grupos de pacientes, sendo ainda mais baixas entre aqueles não respondedores imunológicos, desde o momento inicial até 24 meses de seguimento. Castilho et al.⁶⁹ estratificaram a relação CD4⁺/CD8⁺ em baixa (< 0,40), média (0,40 a 0,69) e alta (≥ 0,70) e encontraram que os indivíduos com baixa relação eram mais velhos, mais provavelmente homens, com *nadir* de T CD4⁺ mais baixo, bem como suas contagens na linha de base. No estudo aqui apresentado, as médias da relação CD4⁺/CD8⁺ estavam abaixo de 0,70 nos dois grupos, sendo que na evolução, nenhum paciente entre os não respondedores alcançou a relação acima desse valor, enquanto que no grupo com resposta adequada, 54,0% estavam nessa condição, inclusive tendo dois indivíduos cuja relação CD4⁺/CD8⁺ encontrava-se acima de 1,0 (dados não mostrados). Castilho et al.⁶⁹ e Serrano et al.⁷⁰ sugeriram que as baixas relações CD4⁺/CD8⁺ pudessem ser um dos marcadores de senescência imunológica, aumentando com isso os riscos de doenças renais, cardiovasculares e neoplasias, dentre outras.

Luz et al.⁷¹ mostraram que a persistência de infecções virais, tais como, o citomegalovírus, contribuem para a imunossenescência, quanto maiores os títulos de IgG. Esses autores associaram a inversão da relação CD4+/CD8+ com comprometimentos funcional e cognitivo entre idosos com infecção pelo citomegalovírus, mas não pelo HIV. Neste estudo, os idosos que apresentavam alta titulação de IgG, tinham oito vezes maiores chances de apresentarem inversão da relação CD4+/CD8+, o que poderia levá-los à progressão do processo de imunossenescência.

Sabe-se que o citomegalovírus apresenta alta prevalência na população geral, porém ela é ainda maior em idosos portadores de HIV/aids.^{72,73} Outros estudos^{74,75} demonstraram que as defesas desenvolvidas pelo citomegalovírus contra o sistema imunológico podem criar ambiente favorável para aumento do reservatório do HIV, estimulando sua replicação nos tecidos, apesar do uso da TARV, comprometendo a recuperação desses indivíduos. Nesse sentido, não foi possível relacionar, no presente estudo, a infecção latente pelo CMV com o tipo de resposta imune, se respondedor ou não respondedor à TARV, pois todos os participantes apresentavam IgG reagente para esse vírus, mostrando contato prévio e, mesmo a casuística sendo composta por 80,7% de homens, não foram identificados aqueles que eram HSH.

É importante ressaltar que o CMV possui grande índice de transmissão entre homens que fazem sexo com homens (HSH). De acordo com a Organização Mundial de Saúde, no Protocolo de Diretrizes para o Manejo de Infecções Sexualmente Transmissíveis, publicado em 2004, a frequência das infecções sexualmente transmissíveis é aumentada em HSH e algumas das razões apontadas foram diminuição do receio em relação à transmissão do HIV, o uso da Internet como meio eficiente para encontrar parceiros sexuais, aumento do uso de medicação para disfunção erétil e o papel do sexo oral na transmissão de infecções.⁷⁶

No presente estudo, foi avaliada a presença de possíveis comorbidades não relacionadas à aids, que poderiam indicar imunossenescência e, talvez, relacioná-la aos indivíduos não respondedores imunológicos. No entanto, praticamente não houve diferenças quanto às alterações lipídicas e à taxa de filtração glomerular, esta última em relação à proporção de indivíduos em cada grupo, porém, foram encontrados estágios mais avançados de injúria renal apenas nos pacientes do grupo não respondedor imunológico, apesar da pequena porcentagem.

O achado de maior relevância foi o aumento da PCR em maior proporção de pacientes não respondedores imunológicos na fase pré-tratamento e após 12 e 36 meses de seguimento, sendo mais evidente antes do início da TARV. Na última avaliação, com 36 meses de seguimento, a PCR encontrava-se elevada em 50,0% dos pacientes do primeiro grupo *versus* 6,2% no segundo.

Chaisson et al.,⁷⁷ em estudo recente, mostraram que pacientes com PCR elevada no período pré-TARV prediziam piores resultados à terapia, pois estariam associados à mortalidade precoce e a infecções oportunistas, não se referindo, no entanto, à não resposta imunológica.

Sabendo-se que a PCR aumenta com infamação, talvez esse fosse mais um fator para justificar o aumento no risco de infarto agudo do miocárdio em indivíduos com infecção pelo HIV quando comparados à população geral.⁷⁸

Chama atenção também a grande proporção de indivíduos com HDL baixo, já no pré-tratamento, com manutenção na evolução após seis, 12, 24 e 36 meses, apesar de não ter havido diferenças na comparação entre os grupos aqui estudados. Nesse sentido, Njoroge et al.⁷⁹, em estudo realizado no Quênia, em 2017, encontraram que baixas contagens de linfócitos TCD4+ associadas às cargas virais elevadas foram preditores independentes de dislipidemia, levando tanto à queda de HDL quanto ao aumento do colesterol total.

No presente estudo, não foi possível sugerir tal afirmação, pois em ambos os grupos, os níveis de HDL estavam baixos em grande proporção dos indivíduos, mesmo naqueles que tiveram resposta imunológica adequada, concordando com o estudo de Savès et al, que não encontraram relação entre esses dois parâmetros.

Hemoglobina baixa e leucopenia também ocorreram em maiores proporções nos pacientes com não resposta imunológica, no momento inicial da avaliação, o que costuma ocorrer em estágios mais avançados da infecção pelo HIV/aids, como foi encontrado no presente estudo.

Em um estudo realizado na China, a anemia foi caracterizada como uma das principais complicações causadas pelo HIV, que foi associada ao sexo feminino, idade mais avançada, menor índice de massa corpórea e menor contagem de linfócitos T CD4+ pré-tratamento.⁸⁰ Assefa et al,⁸¹ na Etiópia, um dos países mais gravemente afetados pelo HIV/aids na África Subsaariana, demonstraram que a prevalência de anemia no momento da introdução da TARV em indivíduos infectados foi de 42,9% em uma coorte de 1061 pacientes, no entanto, ela diminuiu

significativamente para 20,9% aos seis meses e para 14,3% aos 12 meses após o início da TARV. Esses dados são semelhantes aos encontrados no presente estudo, em que 53,8% dos participantes não respondedores imunológicos e 26,9% daqueles com resposta adequada apresentavam anemia na fase pré-tratamento, porém, após 36 meses ainda foi observada alta proporção de anemia, sendo 35,5% *versus* 18,5%, respectivamente, para os não respondedores e aqueles com resposta adequada.

A prevalência de leucopenia, por sua vez, ocorreu em maior proporção entre os pacientes não respondedores imunológicos, nos momentos iniciais e com seis meses de TARV, sendo que nesse grupo, as médias de T CD4+ encontravam-se respectivamente, abaixo de 100 e abaixo de 200 células/mm³. Esses resultados são corroborados por Shen et al,⁸² que associaram a leucopenia com contagens baixas de linfócitos T CD4+, principalmente, quando abaixo de 350 células/mm³, assim como Lin et al,⁸³ que a relacionaram ao diagnóstico tardio da infecção pelo HIV.

V. CONCLUSÕES

As conclusões do presente estudo foram que a PCR elevada, a baixa relação CD4⁺/CD8⁺, anemia e leucopenia foram as principais características pré-tratamento e fatores de risco de indivíduos não respondedores imunológicos à terapia antirretroviral adequada.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Greene C WA. history of AIDS: Looking back to see a head. *Eur. J. Immunol.* Apr 2007; 37: S94–102.
- 2- UNAIDS. Estatísticas globais sobre hiv 2017. *Global Statistics*; 2018.
- 3- Ministério da Saúde (BR). Boletim Epidemiológico AIDS e DST. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, PN de DST e AIDS; 2018.
- 4- Camargo CC. Avaliação da adesão à terapia antirretroviral em indivíduos que vivem com HIV/AIDS [Tese doutorado]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista- UNESP; 2017.
- 5- Clift IC. Lab Med. Diagnostic Flow Cytometry and the AIDS Pandemic. *Lab Med.* 2015; 46(3):59-64.
- 6- Netanya GS, Irini S. Can ART treatment reduce long-term complications by reducing inflammation? *Curr Opin HIV AIDS.* 2014 Jan; 9(1): 72–79.
- 7- Giralt M, Domingo P, Guallar JP, Rodriguez ML, Alegre M, Domingo JC, et al. HIV-1 infection alters gene expression in adipose tissue, which contributes to HIV- 1/HAART-associated lipodystrophy. *Antivir Ther.* 2006;11(6):729-40.
- 8- Irini S, Shelly JK, Nittaya P, James LF, Bonnie S, Suteeraporn P, et al. Persistent, Albeit Reduced, Chronic Inflammation in Persons Starting Antiretroviral Therapy in Acute HIV Infection. *Clin Infect Dis.* 2017 Jan; 64(2): 124-131.
- 9- Linda N, Phyllis C, Tien MD. Metabolic Syndrome, Diabetes, and Cardiovascular Risk in HIV. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2014 Sep; 11(3): 271–278.
- 10- Sackor N. The epidemiology of human immunodeficiency virus-associated neurological disease in the era of highly active antiretroviral therapy. *J Neurovirol.* 2002;8(2):115-21.
- 11- Mulligan K, Grunfeld C, Tai VW, Algren H, Pang M, Chernoff DN, et al. Hyperlipidemia and insulin resistance are induced by protease inhibitors independent of changes in body composition in patients with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2000; 23: 35-43.
- 12- Amorosa V, Tebas P. Bone disease and HIV infection. *Clin Infect Dis.* 2006; 42(1):108-14.
- 13- Arshad A, Bansal A, Patel RC. Cardiac complications of human immunodeficiency virus infection: diagnostic and therapeutic considerations. *Heart Disease* 2000; 2; 133-45.
- 14- Barbaro G. Cardiovascular manifestations of HIV infection. *Circulation* 2002; 106: 1420-5.
- 15- Emery S, Neuhaus JA, Phillips AN, Babiker A, Cohen CJ, Gatell JM, et al. Major clinical outcomes in antiretroviral therapy (ART)-naive participants and in those not receiving ART at baseline in the SMART study. *Clin Infect Dis.* 2008 Apr; 197(8): 1133-44.
- 16- Casott JAS, Fatores Associados à Resposta Imunológica Paradoxal ao Tratamento Antirretroviral em Pacientes com AIDS em Ambulatórios de Doenças Infecciosas. [Tese mestrado]. Espírito Santo: Universidade Federal do Espírito Santo – UFES; 2010.
- 17- Colleen F, Kelley A, Christina MR, et al. Incomplete peripheral CD4+ cell count restoration in HIV-infected patients receiving long-term antiretroviral treatment. *Clin Infect Dis.* 2009 Mar; 48(6): 787-794.

- 18- Ministério da Saúde (BR). Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, PN de DST e AIDS; 2018.
- 19- Khanna N, Opravil M, Furrer H, Cavassini M, Vernazza P, Bernasconi E, et al. CD4+ T cell count recovery in HIV type 1-infected patients is independent of class of antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2008 Oct; 47(8):1093-101.
- 20- Gutiérrez F, Padilla S, Masiá M, Iribarren JA, Moreno S, Viciano P, et al. Patients Characteristics and Clinical Implications of Suboptimal CD4 T-Cell Gains After 1 Year of Successful Antiretroviral Therapy. *Curr HIV Res*. 2008 Mar; 6 (2): 100-7
- 21-Rousseau R, Choi Y, Lau E, Kim JC, Benko E, Huibner S, et al. Immunologic non-response during HIV infection is characterized by systemic immune activation. *J. Immunol*. 2017 May; 198(1):125-3.
- 22- Drona F, Moreno S, Moreno JL, Perez EMJ, Antela A. Long Term Out comes among Antiretroviral-Naïve Human Immuno deficiency Virus–Infected Patients with Small Increases in CD4+ Cell Counts after Successful Virologic Suppression. *Clin Infect Dis*. 2002; 35:1005–9.
- 23- Edana C, Susan M, Phetole M, Robert B, Tomas S, Chris S, et al. Impaired CD4+ T-Cell Restoration in the Small Versus Large Intestine of HIV-1–Positive South Africans Receiving Combination Antiretroviral Therapy. *J. Infect. Dis*. 2013 Oct; 208(7):1113-22.
- 24- David M, Rodriguez P, Mar A, Sarala N, Megan A, Szumilin E, et al. Response to antiretroviral therapy: improved survival associated with CD4 above 500cells/l. *Clin Scien*. 2012 July; 26(11): 1393-1398.
- 25- Berhane K, Roksana K, Mardge CH, Masri LL, Mary MD. Impact of active antiretroviral therapy on anemia and relationship between anemia and survival in HIV infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2004;37:1245-1252.
- 26- Casotti ASJ, Passos LN, Oliveira JPF, Cerutti C. Factors associated with paradoxical immune response to antiretroviral therapy in HIV infected patients: a case control study. *BMC Infect Dis*. 2011 Nov; 11(306).
- 27- Kathryn A, Quihu S, Audrey LF, Alexandra L, Ruth MG, Carolyn W, et al. Total Lymphocyte Count, Hemoglobin, and Delayed-Type Hypersensitivity as Predictors of Death and AIDS Iness in HIV-1–Infected Women. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2004 Apr 1;35(4):383-92.
- 28- Shen Y, Wang Z, Lu H, Wang J, Chen J, Liu L, et al. Prevalence of Anemia among Adults with Newly Diagnosed HIV/AIDS in China. *Plus One*. Sep 2013; 8(9).
- 29- Traisathit P, Delory T, Huong NG, Somsamai R, Techakunakorn P, Theansavetrakul S, et al. AIDS-defining events and deaths in HIV-infected children and adolescents on antiretrovirals: a 14-year study in Thailand. *Jan 2018*; 77(1): 17-22.
- 30- Mupfumi L, Moyo S, Molebatsi K, Thami PK, Anderson M, Mogashoa T, et al. Immunological non-response and low hemoglobin levels are predictors of incident tuberculosis among HIV-infected individuals on Truvada-based therapy in Botswana. *Journ list*. Jan 2018; 13(1).
- 31- Souza SJ, Luzia LA, Santos SS, Rondo PHC. Perfil lipídico de pacientes infectados pelo HIV em relação à terapia antirretroviral: uma revisão. *Rev. Assoc. Med. Bras*. 2013; 59(2): 186-198.
- 32- Savès M, François R, Jacqueline C, Rozenbaum W, Ragnaud JM, Perronne C, et al. Factors Related to Lipodystrophy and Metabolic Alterations in Patients with Human Immunodeficiency Virus Infection Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy. *Clin Infect Dis*. 2002 May; 34 (10): 1369-1405.

- 33- Triant VA, Meigs JB, Grinspoon SK. Association of C-reactive protein and HIV infection with acute myocardial infarction. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009 Jun; 51(3): 268-73.
- 34- Giarg A, Brief Report: A High Rate of $\beta 7+$ Gut-Homing Lymphocytes in HIV-Infected Immunological Nonresponders is Associated With Poor CD4 T-Cell Recovery During Suppressive HAART.
- 35- Zhang XQ1, Schooley RT, Gerber JG. The effect of increasing alpha1-acid glycoprotein concentration on the antiviral efficacy of human immunodeficiency virus protease inhibitors. *J Infect Dis*. 1999 Dec;180(6):1833-7.
- 36- Incidence and Risk Factors for Renal Disease in an Outpatient Cohort of HIV- Infected Patients on Antiretroviral Therap
- 37- Chaisiri K, Bowonwatanuwong C, Kasettrat N, Kiertiburanakul S. Incidence and risk factors for tenofovir-associated renal function decline among Thai HIV-infected patients with low-body weight. *Curr HIV Res*. 2010 Oct; 8(7):504-9.
- 38- Gallant JE, Daar E, Raffi F, et al. Switching tenofovir DF to tenofovir alafenamide in virologically suppressed adults. *Conf Retrovi Opport Infect (CROI)*. 2016 Feb; 29(1): 22-25.
- 39- Robson A, Roitt I. *Imunologia básica: Principios da Imunologia*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.
- 40- Abbas KA, Lichtman HA, Pillai S. *Imunologia Celular e Molecular*. 7 ed. Rio de Janeiro: Campus Elsevier; 2012.
- 41- Jeffrey M. *Imunologia e Microbiologia*. 1 ed Rio de Janeiro: Campus Elsevier, 2007.
- 42- Bain BJ. The hematological features of HIV infection. *British J Hematol* 1997; 99:1-8.
- 43- Araújo MM, Costa SHN. Alterações Hematológicas em Pacientes Portadores de Infecção pelo Vírus HIV. *Rev EVS*. Nov 2014; 41(3):1978-1983.
- 44- Wankah PN, Tagny CTT, Mbanya MND. Profile of blood cell abnormalities among antiretroviral therapy naïve HIV patients attending the Yaounde University Teaching Hospital, Cameroon. *BMC Hematol*. Sep 2014; 14: 15.
- 45- Fausto SV, Chammas CM, Saito CO, Garcia TRM, Juliano GA, Simoes AC, et al. Timo caracterização por ultrassonografia. *Radio. Bras*. 2004; 37(3): 207-2010.
- 46- Rubio A, Martínez MM, Leal M, Franco JM, Ruiz ME, Merchante E, et al. Volume in adult HIV-infected patient sunder HAART: correlation with the T-cell repopulation. *Clin Exp Immunol*. Oct 2002; 130(1): 121-126.
- 47- Becker Y. The Changes in the T helper 1 (Th1) and T helper 2 (Th2) Cytokine Balance During HIV-1 Infection are Indicative of an Allergic Response to Viral Proteins that may be Reversed by Th2 Cytokine Inhibitors and Immune Response Modifiers – a Review and Hypothesis. *Vir Gen*. Jan 2004; 28(1): 5-18.
- 48- Sun H, Kim D, Xiaodong L, Kiselina M, Ouyang Z, Vandekerckhove L. Th1/17 Polarization of CD4 T Cells Supports HIV-1 Persistence during Antiretroviral Therapy. *J Virol*. Sep 2015; 89:11284–11293.
- 49- Planasa D, Routy PJ, Ancuta P. New Th17-specific therapeutic strategies for HIV remission. *Curren Opini*. Mar 2019; 14 (2): 85-92.
- 50- Sojka DK, Huang YH, Fowell DJ. Mechanisms of regulatory T cell suppression - a diverse arsenal for a moving target. *Immunology* 2008; 124(1):13-22.
- 51- Bacchetta R, Gambineri E, Roncarolo MG. Role of regulatory T cells and FOXP3 in human diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120(2):227-35. Review.
- 52- Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and nonself. *Nat Immunol* 2005;6(4):345-52.

- 53- Richter KO. HIV infection of naturally occurring and genetically reprogrammed human regulatory T-cells. *Plos Biol.* Jul 2004;2(7):198.
- 54- Vaz AJ. *Imunoensaios: Fundamentos e aplicações*. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.
- 56- Landay A, Ohlsson WB, Janis VG. Application of flow cytometry to the study of HIV infection. *AIDS.* June 1990; 4(6):479-498.
- 57- Mussini C, Lorenzini P, Statb AC, Lapadula G, Marchetti C, Nicastre E. CD4/CD8 ratio normalisation and non-AIDS-related events in individuals with HIV who achieve viral load suppression with antiretroviral therapy: an observational cohort study. *Scien Direc. Marc* 2015; 2(3): 98-106.
- 58- Monel B, McKeon U, Lamothe MP, Jani P, Boucau J, Pacheco Y, et al. HIV Controllers Exhibit Effective CD8+ T Cell Recognition of HIV-1-Infected Non-activated CD4+ T Cells. *Cell Repers.* Apr 2019; 27(1): 142-153.
- 59- Martin BG, Mars LT, Liblau RS. Pathogenesis of the immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV-infected patients. *Curr Opin Infect Dis.* Jun 2012;25(3):312-20.
- 60- Florence, E. et al. Factors associated with a reduced CD4 lymphocyte count response to HAART despite full viral suppression in the EuroSIDA study. *HIV Medicine.* Jul 2003; 4 (3): 255-62.
- 61- Darraj M, Shafer LA, Chan S, Kasper K, Keynan Y. Rapid CD4 decline prior to antiretroviral therapy predicts subsequent failure to reconstitute despite HIV viral suppression. *J Infect Public Health.* March 2018; 11(2) :265-269.
- 62- Kelley CF, Kitchen CMR, Hunt PW, Rodriguez B, Hecht FM, Kitahata M, et al. Incomplete Peripheral CD4+ Cell Count Restoration in HIV-Infected Patients Receiving Long-Term Antiretroviral Treatment. *Clin Infect Dis.* 2009 March; 48(6): 787–794.
- 63- Ministério da Saúde (BR). *Boletim epidemiológico*. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 2018.
- 64- Stirrup OT, Copas AJ, Phillips AN, Gill MJ, Geskus RB, Touloumi G, et al. Predictors of CD4 cell recovery following initiation of antiretroviral therapy among HIV-1 positive patients with well-estimated dates of seroconversion. *HIV Med.* 2018 Mar;19(3):184-194.
- 65- Kaufmann GB, Hansjakob F, Ledergerber B, Perrin L, Opravil M, Vernazza P, et al. Swiss HIV Cohort Study, Characteristics, Determinants, and Clinical Relevance of CD4 T Cell Recovery to <500 Cells/ μ L in HIV Type 1—Infected Individuals Receiving Potent Antiretroviral Therapy.
- 66- Buzon MJ, Gayo EM, Pereyra F, Ouyang Z, Sun H, Li JZ, et al. Long-Term Antiretroviral Treatment Initiated at Primary HIV-1 Infection Affects the Size, Composition, and Decay Kinetics of the Reservoir of HIV-1-Infected CD4 T Cells. *Journal of Virology.* May 2014; 88(17):1005.
- 67- Strongin Z, Sharaf R, VanBelzen DJ, Jacobson JM, Connick E, Volberding P, et al. Effect of Short-Term Art Interruption on Levels of Integrated Hiv Dna. *Journal of Virology.* Marc 2018.
- 68- Ministério da Saúde (BR). *Boletim epidemiológico*. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 2017.
- 69- Castilho JL, Shepherd BE, Koethe J, Turner M, Bebawy S, Logan J, et al. CD4+/CD8+ ratio, age, and risk of serious noncommunicable diseases in HIV-infected adults on antiretroviral therapy. *AIDS.* Marc 2016 ;30(6).
- 70- Serrano-Villar S, Sainz T, Lee SA, Hunt PW, Sinclair E, Shacklett BL, et al. HIV-infected individuals with low CD4/CD8 ratio despite effective antiretroviral therapy exhibit altered T cell subsets, heightened CD8+ T cell activation, and increased risk of non-AIDS morbidity and mortality. *PLoS Pathog* 2014; 10:e1004078.

- 71- Luz CB, Ornaghi AP, Cerutti MG, Engroff P, Pestana LR, Gomes SF, et al. The inverted CD4:CD8 ratio is associated with cytomegalovirus, poor cognitive and functional states in older adults. *Neuroimmunomodulation*. 2014;21(4):206-12.
- 72- Durier N, Ananworanich J, Apornpong T, Ubolyam S, Kerr SJ, Mahanontharit A, et al. Cytomegalovirus viremia in Thai HIV-infected patients on antiretroviral therapy: Prevalence and associated mortality. *Clin Infect Dis*. 2013;57:147–155.
- 73- Bate SL, Dollard SC, Cannon MJ. Cytomegalovirus seroprevalence in the United States: the national health and nutrition examination surveys. *Clin Infect Dis*. 2010; 50:1439–1447.
- 74- Christensen QA, Massanella M, Frick A, Rawlings SA, Spina C, Vargas MM, et al. Subclinical Cytomegalovirus DNA Is Associated with CD4 T Cell Activation and Impaired CD8 T Cell CD107a Expression in People Living with HIV despite Early Antiretroviral Therapy. *J Virol*. 2019 Jun 14;93(13):179-19.
- 75- McCarthy M, Auger D, He J, Wood C. Cytomegalovirus and human herpesvirus-6 trans-activate the HIV-1 long terminal repeat via multiple response regions in human fetal astrocytes. *J Neurovirol*. 1998 Oct.4(5):495-511.
- 76- World Health Organization. Guidelines for the management of sexually transmitted infections. Geneva. 2004
- 77- Chaisson LH, Semitala FC, Asege L, Mwebe S, Katende J, Nakaye M, et al. Point-of-care C-reactive protein and risk of early mortality among adults initiating antiretroviral therapy. *AIDS*. 2019 Apr; 33(5):895-902.
- 78- Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med*. 2000;342:836-843.
- 79- Njoroge A, Guthrie BL, Bosire R, Wener M, Kiarie J, Farquhar C. Low HDL-cholesterol among HIV-1 infected and HIV-1 uninfected individuals in Nairobi, Kenya. *Lipids Health Dis*. Jun 2017; 16: 110.
- 80- Dai G, Xiao J, Gao G, Chong X, Wang F, Liang H, et al. Anemia in combined antiretroviral treatment-naive HIV-infected patients in China: A retrospective study of prevalence, risk factors, and mortality. *Biosci Trends*. 2017 Jan 16;10(6):445-453.
- 81- Assefa M, Abegaz WE, Shewamare A, Medhin G, Belay M. Prevalence and correlates of anemia among HIV infected patients on highly active anti-retroviral therapy at Zewditu Memorial Hospital, Ethiopia. *BMC Hematol*. 2015; 15(6).
- 82- Shen Y, Wang J, Wang Z, Shen J, Tangkai Qi, Song W. A cross-sectional study of leukopenia and thrombocytopenia among Chinese adults with newly diagnosed HIV/AIDS. *Biosci Trends*. 2015 Apr;9(2):91-6.
- 83- Lin YD, Garner SE, Lau JSY, Korman TM, Woolley IJ. Prevalence of HIV indicator conditions in late presenting patients with HIV: a missed opportunity for diagnosis?. *QJM*. 2019 Jan 1;112(1):17-21.

VII. ANEXOS

- 1- Aprovação do estudo retrospectivo e dispensa do TCLE pelo comitê de ética em pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: RESPOSTA IMUNE PARADOXAL DE INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO HIV APÓS TRATAMENTO

Pesquisador: mayara gomes arruda

Área Temática: Versão: 2

CAAE: 79236817.6.0000.5411

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.882.480

Apresentação do Projeto:

Tratam os autos de emenda na qual as pesquisadoras solicitam alteração na metodologia que constará de estudo retrospectivo, com inclusão de pacientes diferentes do anteriormente proposto que já foram atendidos no Serviço no período de 2012 a 2018. Para essa etapa foi solicitada dispensa de aplicação do TCLE justificando que se trata de levantamento de prontuários, não havendo proposta de consulta médica ou entrevista. Será uma análise apenas de prontuários médicos, por meio do sistema eletrônico (sistema MV) do HCFMB, além de contagens de linfócitos T CD4+ e carga viral, que se encontram disponíveis on line em sistemas eletrônicos próprio do Ministério da Saúde, Sistema de Controle de Exames Laboratoriais (SISCEL). Além disso, trata-se de estudo retrospectivo de doente com aids, com diagnóstico desde 2012, sendo que parte dessa casuística terá evoluído para óbito.

Objetivo da Pesquisa:

Já relatado e aprovado pelo CEP através do Parecer 2.390.584 de 20 de novembro de 2017.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Já relatado e aprovado pelo CEP através do Parecer 2.390.584 de 20 de novembro de 2017.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Já relatado e aprovado pelo CEP através do Parecer 2.390.584 de 20 de novembro de 2017.

Continuação do Parecer: 2.882.480

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Já relatado e aprovado pelo CEP através do Parecer 2.390.584 de 20 de novembro de 2017.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise, o Colegiado deliberou APROVAÇÃO da emenda ao projeto de pesquisa apresentada.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado em reunião ordinária do Comitê de Ética em Pesquisa da FMB/UNESP, realizada em 03 de setembro de 2018, o documento enviado na forma de “Emenda”, se encontra APROVADO, sem (com) necessidade de envio à CONEP.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1154290_E1.pdf	23/07/2018 13:42:49		Aceito
Outros	mayaraementa.pdf	23/07/2018 13:39:07	mayara gomes arruda	Aceito
Outros	mayaradispensa.pdf	23/07/2018 13:38:01	mayara gomes arruda	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	MAYARAPROJETO.docx	21/10/2017 13:23:22	mayara gomes arruda	Aceito
Cronograma	cronograma.docx	21/10/2017 13:22:48	mayara gomes arruda	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	21/10/2017 13:22:18	mayara gomes arruda	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	mayarabiorrepositorio.docx	21/10/2017 13:21:48	mayara gomes arruda	Aceito
Outros	EAPMAYARA.pdf	04/10/2017 19:40:36	mayara gomes arruda	Aceito
Folha de Rosto	folharostomayara.pdf	04/10/2017 19:08:15	mayara gomes arruda	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 10 de Setembro de 2018

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

2- Alteração do título do projeto de pesquisa, nível mestrado

MUDANÇA DE TÍTULO EM PROJETO DE PESQUISA*

Objetivo Acadêmico: Dissertação de Mestrado

Título constante no parecer de aprovação:

Resposta imune paradoxal de indivíduos infectados pelo HIV após tratamento

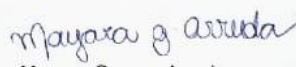
Título final (constante na capa da dissertação):

Fatores associados à não resposta imunológica após terapia antirretroviral adequada

Data da reunião do CEP que aprovou o parecer inicial: 20/11/2017

Declaramos que o trabalho não sofreu alterações nos objetivos e/ou conteúdo metodológico da época de apresentação para análise do CEP.


Lenice do Rosário de Souza
Orientadora


Mayara Gomes Arruda
Orientada

1450 20/05/2019 00000000 COMITE DE ETICA EM PESQUISA PRO - UNESP