

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIAS NUTRICIONAIS**

JÉSSICA CARVALHO MARIA

**INSUFICIÊNCIA DE VITAMINA D EM PACIENTES
INFECTADOS PELO HIV TRATADOS COM TERAPIA
ANTIRRETROVIRAL CONTENDO TENOFOVIR**

ARARAQUARA - SP

2015

JÉSSICA CARVALHO MARIA

**INSUFICIÊNCIA DE VITAMINA D EM PACIENTES
INFECTADOS PELO HIV TRATADOS COM TERAPIA
ANTIRRETROVIRAL CONTENDO TENOFOVIR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista – UNESP para obtenção do título de mestre em Ciências Nutricionais.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro.

ARARAQUARA – SP

2015

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

M332i Maria, Jéssika Carvalho
Insuficiência de vitamina D em pacientes infectados pelo HIV tratados com terapia antirretroviral contendo tenofovir : insuficiência de vitamina D no uso de antirretroviral / Jéssika Carvalho Maria - Araraquara, 2015
69 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição

Orientador: Anderson Marliere Navarro

1. Insuficiência de vitamina D. 2. Densidade mineral óssea. 3. HIV. 4. Terapia antirretroviral. 5. Tenofovir. I. Navarro, Anderson Marliere, orient. II. Título.

CAPES: 50700006

Dedicatória

Primeiramente à DEUS, por iluminar meus caminhos e colocar ao meu lado pessoas tão maravilhosas e uma família tão especial.

Ao meu esposo pela sua companhia ao longo da nossa trajetória e que há 14 anos vem dedicando seu amor, carinho e sempre me encorajando nos momentos difíceis. Por toda a sua compreensão e apoio que foram fundamentais para à concretização deste sonho.

Aos meus pais Luís Carlos Maria (in memoriam) e Rosângela Carvalho Maria pelos ensinamentos que formaram os alicerces de minha história. Que mesmo diante das dificuldades sempre incentivaram nos meus estudos. Amo muito vocês e sempre amarei.

Ao meu irmão Renan e aos meus sogros e pais do coração Durval Carvalho e Mirka Isique por todo o apoio, incentivo, carinho e dedicação. Amo vocês.

Agradecimentos

O agradecimento especial vai para o meu orientador prof. Dr. Anderson Marliere Navarro, que colaborou com toda sua sabedoria e paciência para a concretização deste estudo. Agradeço-lhe por ser tão humano e compreensivo e pela exemplar postura profissional. Mesmo diante das dificuldades e barreiras que surgiram ao longo da coleta, sempre esteve ao meu lado dando o incentivo necessário e com palavras positivas. Muitíssimo obrigada pela oportunidade e confiabilidade de ser sua aluna.

A doutoranda Erika Grasiela M. de Menezes, pela exemplar postura profissional, por toda atenção, compreensão, sabedoria e dedicação, bem como pela amizade e pelos conselhos. Sempre linda alegre e disposta a ajudar em tudo e a todos. Você certamente terá e merece muito sucesso em sua vida pessoal e profissional. Conte comigo sempre.

À profa. Dra. Thais Borges César, pelo carinho durante o estágio de docência, pelos conselhos e incentivos necessários para esta trajetória, e por sempre realizar o seu trabalho com grande brilhantismo.

Ao prof. Dr. Rodrigo Carvalho Santana, pelos ensinamentos e colaboração durante a coleta de dados e por dedicar tanta atenção, carinho e respeito ao realizar o seu trabalho.

Ao prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Júnior e a técnica Paula Payao Ovídio pelo acolhimento, amizade construída, por toda atenção, ensino e carinho que me proporcionaram no momento das análises e pela disponibilização do Laboratório de Nutrição e Metabolismo da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.

Ao prof. Dr. Francisco José Albuquerque de Paula e a técnica Marta Nakao pela atenção e disponibilidade para realização das análises no Laboratório de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-SP.

Ao prof. Dr. Fernando Barbosa Júnior e a técnica Vanessa C. de Oliveira Souza pela disponibilização do Laboratório de Toxicologia e Essencialidade de Metais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-SP.

À toda equipe da Unidade Especial de Tratamento para Doenças Infecciosas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP e a Unidade de Pesquisa Clínica do HCFMRP-USP.

Às técnicas Maria do Rosário, Nayara Luciane Piton Cordeiro e Rita de Cássia C. Vanichio e Renata C. Lataro.

À toda equipe da pela disponibilização do local e de funcionários para a realização das coletas de sangue.

À Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência – FAEPA do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP pelo apoio financeiro para realização desse trabalho.

À todos os amigos da pós-graduação, Renata Dessordi, Ligia M. Watanabe, Rebeca A. Beraldo, Gabriele Aranda, Mariana Guimaraes, Marina C. Ruocco.

Aos professores e funcionários da pós-graduação da FCFAR-UNESP, pelo auxílio e atenção dispensados.

Aos voluntários que participaram deste estudo, pela disponibilidade e colaboração, parte essencial do trabalho.

À CAPES, pela bolsa concedida.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Características gerais dos pacientes de acordo com o grupo de estudo.....	59
Tabela 2 Concentrações bioquímicas séricas de acordo com os grupos de estudo.....	60
Tabela 3: Valores de consumo alimentar e recomendações de energia, macronutrientes e micronutrientes de acordo com os grupos de estudo.....	61
Tabela 4 Classificação da densidade mineral óssea dos sítios ósseos: coluna lombar, quadril total e corpo total, segundo os critérios da <i>International Society for Clinical Densitometry – ISCD</i> de acordo com os grupos de estudo.....	62
Tabela 5: Correlação de Pearson, entre as variáveis quantitativas e a concentração sérica de vitamina D em pacientes soropositivos para HIV.....	63
Tabela 6 Modelos de Regressão Linear para vitamina D (modelo I), DMO lombar (modelo II), DMO quadril total (modelo III) e DMO corpo total (modelo IV) em paciente soropositivos para HIV.....	64

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 CDC, 2012 – Sistema de Classificação de adultos e adolescentes infectados pelo HIV.....	21
Quadro 2 Recomendações para início de terapia antirretroviral em pessoas vivendo com HIV/Aids (PVHA).....	23

RESUMO

MARIA, J. C. **Insuficiência de vitamina d em pacientes infectados pelo hiv tratados com terapia antirretroviral contendo tenofovir, 2015.** 70f. Dissertação (Mestrado). Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêutica da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara - SP, 2015.

Introdução: A vitamina D é um nutriente essencial para a mineralização do esqueleto e manutenção de massa óssea. Evidências recentes têm demonstrado uma alta prevalência de deficiência de vitamina D em infectados pelo HIV, principalmente em uso de tenofovir (TDF), por afetar as células tubulares renais, causando a perda de eletrólito e a redução da massa óssea. **Objetivo:** avaliar os efeitos do tenofovir nos níveis séricos de vitamina D e seu impacto sobre a densidade mineral óssea em pacientes sob regime de tenofovir ou não. **Metodologia:** Estudo transversal com 127 indivíduos, de ambos os sexos, com idades entre 18 e 60 anos. Os participantes foram subdivididos em 3 grupos, sendo: grupo em uso do tenofovir (GTDF+): n= 48 participantes, grupo sem uso de tenofovir (GTDF-): n= 49 participantes e grupo controle (GC): n= 30 participantes soronegativos para HIV. Realizou-se dual energy x-ray absorptiometry (DXA) para avaliação da densidade mineral óssea (DMO) e composição corporal. Amostras de sangue periférico foram coletadas para determinações da 25 hidroxivitamina D (25(OH)D), hormônio da paratireoide (PTH), hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH), testosterona, estradiol, creatinina, uréia, albumina, cálcio, magnésio e fósforo. Calculou-se a taxa de filtração glomerular e avaliação do consumo alimentar. **Resultados:** A vitamina D sérica apresentou valores insuficientes na maioria dos participantes e o consumo alimentar de vitamina D, cálcio e magnésio mostraram abaixo da recomendação dietética em todos os grupos do estudo. O GTDF+ apresentou valores séricos menores de vitamina D quando observado com os valores do grupo GTDF-. A deficiência de vitamina D foi observada em 31% dos pacientes em uso de TDF e em 20% dos pacientes sem uso de tenofovir. Observou-se que até 25% dos participantes em uso de tenofovir apresentaram osteopenia, principalmente no sítio ósseo da coluna lombar, enquanto para o grupo sem tenofovir a porcentagem foi maior para osteoporose. **Conclusão:** A maioria dos participantes infectados pelo HIV sob regime ou não de tenofovir apresentou insuficiência de vitamina D e níveis deficientes principalmente para o grupo sob o regime de tenofovir. A redução de massa óssea foi observada principalmente no sítio ósseo da coluna lombar em participantes sob o regime ou não de tenofovir. Apesar dos resultados observados em insuficiência/deficiência de vitamina D e redução da massa óssea, não foi determinado o

regime de drogas antirretrovirais que mais afetaria para a disfunção do metabolismo da vitamina D e perda da massa óssea.

Palavras-chave: Insuficiência de vitamina D, densidade mineral óssea, HIV, terapia antirretroviral, tenofovir

ABSTRACT

MARIA, JC. **Vitamin D deficiency in HIV-infected patients treated with antiretroviral therapy containing tenofovir**, 2015. 70f. Thesis (MS). Department of Food and Nutrition, Faculty of Pharmaceutical Sciences at the Universidade Estadual Paulista " Julio de Mesquita Filho", Araraquara - SP, 2015

Introduction: Vitamin D is an essential nutrient for the mineralization of the skeleton and maintenance of bone mass. Recent evidence has shown a high prevalence of vitamin D deficiency in HIV-infected, mainly in use of tenofovir (TDF), to affect the renal tubular cells, causing the loss of electrolyte and reduced bone mass. **Objective:** To evaluate the effects of tenofovir in serum levels of vitamin D and its impact on bone mineral density by comparing patients on tenofovir system versus non tenofovir. **Methods:** Cross-sectional study with 127 individuals of both genders, aged between 18 and 60 years. Participants were divided into the following 3 groups: group using tenofovir (GTDF+): n = 48 participants, group not using tenofovir (GTDF-): n = 49 participants and control group (CG): n = 30 participants seronegative for HIV. Dual energy x-ray absorptiometry (DXA) was performed to evaluate bone mineral density (BMD) and body composition. Peripheral blood samples were collected for the determination of 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D), parathyroid hormone (PTH), luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), testosterone, estradiol, creatinine, urea, albumin, calcium, magnesium and phosphorus. The glomerular filtration rate was calculated and the dietary intake evaluated. **Results:** Vitamin D had insufficient serum levels in all study groups as shown inadequate dietary intake. The GTDF + group showed lower serum levels of vitamin D when viewed with the values of GTDF- group, and 31% of patients using TDF showed serum deficiency. It was observed that up to 25% of the participants use of tenofovir showed osteopenia, especially in the lumbar spine bone site, whereas the group without tenofovir was higher percentage for osteoporosis. **Conclusion:** Most of the participants infected with HIV under control or not of tenofovir had insufficient vitamin D deficient levels and especially for the group under the tenofovir regimen. The reduction of bone mass was observed mainly in the lumbar spine bone site for participating in the system or without tenofovir. Although the results observed in failure / vitamin D deficiency and reduced bone mass, it has not been determined the system of more antirretroviral drugs that affect to the dysfunction of vitamin D metabolism and bone loss.

Keywords: Vitamin D insufficiency, bone mineral density, HIV, antirretroviral therapy, tenofovir

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aids	Acquired Immunodeficiency Syndrome
Ca	Cálcio
CD4	Receptor presente nos linfócitos T-auxiliares
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DXA	<i>Dual energy x-ray absorptiometry</i>
DMO	Densidade mineral óssea
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DRI	<i>Dietary Reference Intakes</i>
EAR	Necessidade média estimada
FAEPA	Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência
FCFRP-USP	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FMRP-USP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
FSH	Hormônio do folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
HC-FMRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HIV-1	Vírus da imunodeficiência tipo 1
HIV-2	Vírus da imunodeficiência tipo 2
II	Inibidor da integrase
IL-1	Interleucina-1
IMC	Índice de massa corpórea
IPs	Inibidores de protease
ISCD	<i>International Society for Clinical Densiometry</i>
ITRN	Inibidores de transcriptase reversa análogo de nucleosídeos e nucleotídeos
ITRNN	Inibidores de transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos
LH	Hormônio luteinizante
Mg	Magnésio
25(OH)D	25 hidroxivitamina D
1,25(OH) ₂ D ₃	1,25 dihidroxivitamina D
OMS	Organização Mundial da Saúde

P	Fósforo
PTH	Paratormônio
RNA	Ácido ribonucléico
Rpm	Rotações por minuto
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TARV	Terapia antirretroviral
T CD4+	Linfócito T-auxiliar
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDF	Tenofovir
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
UETDI	Unidade Especial de Tratamento para Doenças Infecciosas
UNAIDS	Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/aids
UNESP	Universidade Estadual Paulista
UPC	Unidade de Pesquisa Clínica
USDA	<i>National Nutrient Database for Standard Reference</i>

SUMÁRIO

Capítulo I

1. INTRODUÇÃO	18
2. HIPÓTESE	21
3. OBJETIVO	22
3.1 Objetivo geral	22
3.2 Objetivos específicos	22
4. REVISÃO DA LITERATURA	23
4.1 HIV/AIDS – considerações gerais	23
4.2 Efeitos da infecção pelo HIV e TARV sobre o tecido ósseo	27
4.3 Influência do Tenofovir sob a vitamina D	29
REFERÊNCIAS	32

Capítulo II

RESUMO	42
1. INTRODUÇÃO	43
2. CASUÍSTICA E MÉTODOS	44
2.1 Avaliação antropométrica	45
2.2 Avaliação dietética	45
2.3 Avaliação Óssea	46
2.4 Avaliação bioquímica	46
2.5 Análise estatística	48
3 RESULTADOS	48
4 DISCUSSÃO	51
5 FINANCIAMENTO	54
6 CONFLITO DE INTERESSE	54
7 REFERÊNCIAS	55

8 TABELAS.....	60
-----------------------	-----------

ANEXOS

ANEXO A – Protocolo CEP/HCFMRP-USP.....	65
ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	68

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

O HIV foi identificado como a causa da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida - SIDA ou Acquired Immunodeficiency Syndrome – AIDS (sigla em inglês) em 1983. Na época, descobriu-se que se tratava de um retrovírus, o vírus da imunodeficiência humana (HIV), responsável por atacar o sistema imunológico, em especial os linfócitos TCD4+, que protege o organismo contra outras doenças e infecções (SUDHARSHAN; BISWAS, 2008). Desde então, milhares de milhões de dólares foram investidos na determinação de como ocorre a transmissão e como a doença é causada (DEEKS, 2013b).

Sabe-se que as pessoas infectadas pelo HIV, tratados a longo prazo, têm uma vida útil esperada menor do que aqueles que não são infectados. O próprio vírus é responsável por causar uma inflamação crônica, levando a um declínio funcional, assim como pelas doenças associadas e pela toxicidade do tratamento antirretroviral (DEEKS, 2013).

No ano de 1996 foi lançado o primeiro consenso em terapia antirretroviral (TARV), garantindo o acesso ao tratamento para todas as pessoas que vivem com HIV e que tenham indicações para recebê-lo conforme as recomendações terapêuticas vigentes, que são constantemente revisadas e atualizadas à medida que novos medicamentos são lançados (BRASIL, 2008). De acordo com o último Boletim Epidemiológico aproximadamente 757.042 mil pessoas vivem com HIV/ Aids no Brasil (BRASIL, 2014b).

A ampla utilização da TARV resultou na melhora da qualidade de vida dessa população e na redução dos indicadores de morbidade e mortalidade. Porém, não está isenta de efeitos adversos, tais como má distribuição da gordura corporal, processo inflamatório acelerado ou variantes virais mais resistentes ao tratamento (BRASIL, 2008; DEEKS, 2011; DEEKS, 2013).

Esta população pode apresentar manifestações de envelhecimento mais precoce do que na população em geral, com o aparecimento de doenças cardiovasculares, distúrbios cognitivos, câncer, complicações metabólicas e doenças ósseas (DEEKS, 2011). Uma das complicações metabólicas mais comuns em infectados pelo HIV na era moderna do tratamento é a redução da densidade mineral óssea (DMO), que leva a osteopenia e osteoporose (ARNSTEN, et al. 2007; MURPHY, et al. 2009).

Com o passar dos anos, as pessoas infectadas pelo HIV apresentam alterações nos níveis de hormônios sexuais como a testosterona, androsterona e estrogênios que levam a uma redução da densidade mineral óssea. Além disto, o envelhecimento celular causado pelo vírus

podem aumentar as concentrações séricas de hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulantes (FSH) (GEBARA, 2002).

Estudos tem demonstrado que o PTH pode estabelecer níveis satisfatórios de vitamina D e que níveis elevados do PTH leva a diminuição desta vitamina, caracterizando uma alteração na homeostase do cálcio e hiperparatireoidismo secundário (CHAPUY, 1997), além de uma série de complicações clínicas, como o aumento da incidência de fraturas (ANSEMAN et. al., 2013; CHILDS et. al., 2012).

Outros fatores de risco que contribuem para a baixa DMO são: baixo peso corporal, tabagismo, etilismo, má nutrição, duração da infecção pelo HIV e viremia elevada (BROWN, et. al., 2015; DUTRA; LIBONATI, 2008). A iniciação da TARV está associada com uma redução de 2-6% na densidade mineral óssea durante os primeiros 2 anos de tratamento, e pode variar de acordo com os medicamentos utilizados (BROWN et. al., 2015).

O fumarato de tenofovir disoproxil (TDF) é um antirretroviral da classe dos inibidores de transcriptase reversa análogo de nucleosídeos e fazem parte do arsenal terapêutico no Brasil, sendo frequentemente utilizado para o tratamento de pacientes com HIV/aids (BRASIL, 2008; GILL et. al., 2014; HAVENS et. al., 2013). Em 2006, com base em estudos que mostraram sua eficácia e a facilidade de ingestão (um comprimido por dia), a Organização Mundial da Saúde (OMS) passou a recomendá-lo no início de tratamento (BRASIL, 2008).

O TDF é muito eficaz, porém seu uso está associado toxicidade renal, óssea e endócrina. O mecanismo que o associa com estas toxicidades específicas não está claro e estudos mostram que sua utilização está relacionada com a diminuição da DMO, possivelmente provocada por fosfatúria acompanhada de hipofosfatemia (HAVENS et. al.; 2013) além de alterações na expressão de genes, no metabolismo da vitamina D e na função dos osteoblastos (GRIGSBY, et. al., 2010; GRIGSBY, et. al. 2010b; SAMIR; GUPTA, 2008; WOODWAR et. al., 2009).

Diferente de vitaminas essenciais como a A, E e C, que os seres humanos obtém diretamente dos alimentos, a vitamina D também pode ser produzida pelo organismo através de uma reação fotossintética ao expor a pele à luz solar. Sua estrutura química é semelhante aos hormônios esteroides, considerada um pró-hormônio biologicamente inativo e que para se tornar ativo passam por duas hidroxilações sucessivas: a primeira ocorre no fígado e a segunda nos rins, no carbono 1, levando à formação ativa da vitamina D, a 1,25-dihidroxitamina D (1,25(OH)₂D₃), conhecida como calcitriol (PETERS; MARTINI, 2014).

Atualmente, o calcitriol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) vem sendo reconhecido como um potente modulador do sistema imunológico (HAVERS et. al., 2014); com funções importantes e sobre o metabolismo ósseo (CONRADO et. al., 2010; IOM, 2011).

O estado nutricional adequado influencia para a qualidade da saúde óssea pela disponibilidade de cálcio (Ca), fósforo (P) e magnésio (Mg) na dieta que determinam a absorção na porção intestinal e suprem as necessidades de aumento de massa óssea, durante a fase de crescimento (*turnover*) e da remodelação óssea, na idade adulta (BARBOSA, 2013).

A deficiência prolongada de cálcio pode levar a uma diminuição da densidade óssea que pode variar em 10% da população normal. Quando a concentração de cálcio está baixa, o PTH e/ou calcitriol normalizam a mesma pela mobilização do cálcio do osso, aumentando a absorção intestinal e estimulando sua reabsorção pelos rins. Esta falsa sensação causada pelos valores séricos de cálcio dentro da normalidade pode fazer com que a deficiência deste mineral passe despercebida. (IOM, 2011; SILVA; COZZOLINO, 2009).

Considerando que o tenofovir é utilizado por período prolongado no tratamento para HIV/Aids, a monitorização dos efeitos adversos são necessários para melhor manejo clínico a fim de reduzir alterações no metabolismo da vitamina D e danos na saúde óssea em pacientes infectados pelo HIV.

2. HIPÓTESE

Pacientes infectados pelo HIV em uso de Tenofovir apresentam maior prevalência de deficiência de Vitamina D e diminuição da densidade mineral óssea.

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do tenofovir nos níveis séricos de vitamina D e seu impacto sobre a densidade mineral óssea em pacientes sob regime de TDF ou não.

3.2 Objetivos específicos:

Investigar a influência do tempo de exposição do HIV e dos antirretrovirais no estado nutricional da vitamina D e na densidade mineral óssea em diferentes sítios ósseos, tais como a coluna lombar, quadril total e corpo total.

Avaliar as concentrações séricas de vitamina D, cálcio, magnésio, fósforo e hormônios gonadais em pacientes infectados pelo HIV tratados ou não com tenofovir e correlacionar com a densidade mineral óssea.

Verificar a composição corporal e a ingestão dietética de vitamina D, cálcio, magnésio, fósforo e macronutrientes em participantes saudáveis e comparar com participantes infectados pelo HIV tratados com diferentes drogas antirretrovirais associando com a densidade mineral óssea.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 HIV/AIDS – CONSIDERAÇÕES GERAIS

A Aids foi descrita pela primeira vez por volta de 1981 nos Estados Unidos (QUAGLIARELLO, 1982; SEPKOWITZ, 2001). Em 1983, o HIV-1 foi isolado de pacientes com Aids pelos pesquisadores Luc Montaigner, na França, e Robert Gallo, nos Estados Unidos. Três anos mais tarde (1986), foi identificado um segundo agente etiológico, pertencente a família *Retroviridae* (retrovírus), da subfamília *Lentivirinae* com características semelhantes ao HIV-1, denominado HIV-2 (SOTO-RIFO et. al., 2012; SUDHARSHAN; BISWAS, 2008).

Desde o aparecimento dos primeiros casos, observou-se uma importante alteração nas características demográficas e epidemiológicas da doença. No início, era restrita a áreas específicas, logo se espalhou por várias regiões do mundo e tornou-se uma pandemia (VALENTE et. al., 2005). Passados 30 anos, a doença está estabilizada e concentrada em alguns subgrupos populacionais em situação de vulnerabilidade. Nos últimos 10 anos, observa-se uma redução de 6,6% na taxa de mortalidade por aids no Brasil. Em 2013, foram declarados 12.431 óbitos, que corresponde a um coeficiente de mortalidade por aids de 5,7 por 100.000 habitantes (BRASIL, 2014b).

As principais formas de transmissão do vírus HIV são: a falta de uso do preservativo, a reutilização de seringas e agulhas, o recebimento de sangue contaminado ou produtos sanguíneos, acidentes ocupacionais envolvendo agulhas contaminadas, a transmissão de mãe para filho, transmissão pré-parto, intraparto, pós-parto ou via aleitamento materno (VERMUND; BROWN, 2012).

Após a transmissão, para que o RNA do vírus seja detectável no plasma leva aproximadamente 10 dias, período classificado como fase eclipse. A replicação viral ativa e a livre circulação do vírus na corrente sanguínea acarretam a formação de um pico de viremia por volta de 21 a 28 dias após a exposição ao HIV. Essa viremia está associada a uma diminuição acentuada no número de linfócitos T-CD4+ (BRASIL, 2014).

Durante a expansão e disseminação sistêmica do vírus, há a indução da resposta imunológica através da produção adicional de linfócitos T-CD4+, mas esta é tardia e insuficiente em magnitude para erradicar a infecção. Igualmente, o número crescente de linfócitos T CD8+ exerce um controle parcial da infecção, mas não suficiente para impedir,

em ausência de terapia, a lenta e progressiva depleção de linfócitos T-CD4⁺ e a eventual progressão para a SIDA. (BRASIL, 2014).

Em indivíduos que permanecem com uma contagem de linfócitos T-CD4⁺ acima de 350 células/mm³, os episódios infecciosos mais comuns são as infecções respiratórias ou mesmo a tuberculose. Com a progressão da infecção começam a surgir as infecções atípicas e a serem observadas respostas tardias a antibioticoterapia (BRASIL, 2013b).

Para avaliar a gravidade da doença pela contagem de T-CD4⁺ e pela presença de condições específicas relacionadas com o HIV, foi elaborado o sistema de estadiamento clínico da doença (revisto em 1993 pelo *Centers for Disease Control and Prevention* - CDC). A definição de aids inclui todos os indivíduos infectados pelo HIV com contagem de T-CD4⁺ <200 células / mL (ou percentagem de T-CD4⁺ <14%), bem como aqueles com condições e sintomas relacionados com o vírus, como é o caso dos pacientes das categorias A3, B3, e C1-C3 (CDC, 2012), (**Quadro 1**).

QUADRO 1 - CDC, 2012 – SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO DE ADULTOS E ADOLESCENTES INFECTADOS PELO HIV

Categoria da contagem de células T CD4 ⁺	Categorias Clínicas		
	* A Assintomática, HIV aguda ou linfadenopatia	** B Condições Sintomáticas (sem A ou C)	*** C AIDS – Condições Indicadoras
(1) ≥500 células / µL	A1	B1	C1
(2) 200-499 células / µL	A2	B2	C2
(3) <200 células / µL	A3	B3	C3

* **Categoria A, condições assintomáticas, incluem:** diagnóstico de infecção aguda pelo HIV; linfadenopatia > 0,5cm em mais de dois sítios além do inguinal; hepatomegalia; esplenomegalia; dermatite; parotidite.

** **Categoria B, condições sintomáticas, incluem:** angiomatose bacilar; candidíase orofaríngea; candidíase vulvo-vaginal persistentes ou resistentes; doença inflamatória pélvica; displasia cervical (moderada ou severa) / carcinoma cervical; leucoplasia pilosa; herpes zoster; púrpura trombocitopênica idiopática; sintomas constitucionais, como febre (> 38,5°C), diarreia com duração > 1 mês; neuropatia periférica.

***** Categoria C, condições indicadores da Aids, incluem:** pneumonia bacteriana, recorrente (dois ou mais episódios em 12 meses); candidíase dos brônquios, traquéia ou pulmões; candidíase esofágica; carcinoma cervical; coccidioidomicose, disseminada ou extrapulmonar; criptococose extrapulmonar; citomegalovírus (com exceção do fígado, baço); encefalopatia; herpes simplex (úlceras crônicas > 1 mês de duração); histoplasmose; sarcoma de Kaposi; linfoma de Burkitt; micobactérias kansassi; tuberculose; pneumocistose; toxoplasmose cerebral; leucoencefalopatia; salmonella septicemia; síndrome consumptiva (CDC, 2012).

Observou-se um aumento na sobrevida dos pacientes infectados pelo HIV após a implantação da política de acesso universal a terapia antirretroviral, que posteriormente levou à introdução de uma combinação de drogas com diferentes formas de ação (DUTRA; LIBONATI, 2008; MOCROF et. al., 2003; VALENTE et. al., 2005). O tratamento inibe a replicação do vírus, proporcionando redução do RNA viral e, assim, observa-se a elevação dos linfócitos T CD4+, células-alvo do HIV (FERREIRA et. al., 2012; FONSECA et. al., 2012; UNAIDS/WHO, 2011; WASTI et. al., 2012; WEISS, 2008).

A TARV consiste em uma combinação de drogas das seguintes classes:

- **Inibidores de Fusão (IF)** - impedem a entrada do vírus na célula e, por isso, ele não pode se reproduzir. É a Enfuvirtida.
- **Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos/ Nucleotídeos (ITRN)** - atuam na enzima transcriptase reversa, incorporando-se à cadeia de DNA que o vírus cria. Tornam essa cadeia defeituosa, impedindo que o vírus se reproduza. São eles: Abacavir, Didanosina, Estavudina, Lamivudina, Tenofovir, Zidovudina e a combinação Lamivudina/Zidovudina.
- **Inibidores da Transcriptase Reversa Não-Análogos de Nucleosídeos (ITRNN)** - bloqueiam diretamente a ação da enzima e a multiplicação do vírus. São eles: Efavirenz, Nevirapina e Etravirina.
- **Inibidores da Integrase (II)** – bloqueiam a atividade da enzima integrase, responsável pela inserção do DNA do HIV ao DNA humano (código genético da célula). Assim, inibe a replicação do vírus e sua capacidade de infectar novas células. São eles: Raltegravir e Elvitegravir
- **Antagonista CCR5** – os antagonistas de CCR5 têm como alvo os receptores de quimiocina CCR5, presentes nos linfócitos T. É o Maraviroque.

- **Inibidores de Protease (IP)** – atuam na enzima protease, bloqueando sua ação e impedindo a produção de novas cópias de células infectadas com HIV. São eles: Atazanavir, Darunavir, Fosamprenavir, Indinavir, Lopinavir/r, Nelfinavir, Ritonavir, Saquinavir e Tipranavir.

Os critérios definidos do Ministério da Saúde para o início da TARV para pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHA), podem ser observados no **Quadro 2** (BRASIL, 2013):

QUADRO 2 - RECOMENDAÇÕES PARA INÍCIO DE TERAPIA ANTIRRETROVIRAL EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS (PVHA)

Todas as PVHA, independentemente da contagem de CD4	
Estimular início imediato da TARV, na perspectiva de redução da transmissibilidade do HIV, considerando a motivação da PVHA.	
Sintomáticos (incluindo tuberculose ativa), independentemente da contagem de CD4	
Iniciar TARV	
Assintomáticos	
• CD4 $\leq$ 500 células/mm³ • CD4 > 500 células/mm³	• Iniciar TARV Iniciar TARV na coinfeção HIV-HBV com indicação de tratamento para hepatite B Considerar TARV nas seguintes situações: • Neoplasias não definidoras de aids com indicação de quimioterapia ou radioterapia • Doença cardiovascular estabelecida ou risco cardiovascular elevado (acima de 20%, segundo escore de Framingham) • Coinfeção HIV-HCV • Carga viral do HIV acima de 100.000 cópias/mL
Sem contagem de linfócitos T-CD4+ disponível	Na impossibilidade de se obter contagem de T-CD4, não se deve adiar o início do tratamento
Gestantes	
Iniciar TARV	

Fonte: BRASIL 2013 Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pcdt/7>.

Apesar do sucesso e a eficácia com o tratamento da terapia antirretroviral de fornecerem um aumento significativo no tempo de sobrevida dos pacientes com HIV/Aids, os

doentes tratados em longo prazo estão sujeitos aos efeitos adversos associados com o envelhecimento, que afetam o fígado, rins, ossos, sistema nervoso central e cardiovascular (CHILDS, 2012; DEEKS, 2013).

4.2 EFEITOS DA INFECÇÃO PELO HIV E TARV SOBRE O TECIDO ÓSSEO

Os níveis de marcadores inflamatórios em pessoas vivendo com Aids são superiores aos encontrados em controles HIV negativos, mesmo quando comparados a indivíduos com carga viral controlada pelo uso de TARV. Esses marcadores são ainda mais elevados em indivíduos sem tratamento antirretroviral. Esse quadro leva a uma diminuição da vida útil esperada nessa população quando comparados com aqueles que não são infectados (BRASIL 2013b).

Este fato se dá pelo aumento do risco de uma série de complicações, não relacionadas ao HIV, semelhante às observadas durante o envelhecimento, levando a um declínio funcional, assim como pelas doenças associadas como as doenças cardiovasculares, alterações hepáticas, renais e ósseas, além de perda das funções neurocognitivas, neoplasias e pela toxicidade do tratamento, tornando o indivíduo vulnerável a outras doenças, a redução das respostas ao stress e a morte (DEEKS, 2011).

O envelhecimento precoce somado a infecção pelo HIV e / ou no seu tratamento, podem causar distúrbios do tecido adiposo (lipodistrofia) como a perda de massa de gordura periférica e ganho de gordura central. A obesidade visceral também é responsável pelo aumento das proteínas inflamatórias e um preditor de resistência à insulina (BRASIL, 2013b; DEEKS, 2011).

Com o avançar da idade, os níveis de hormônios sexuais também sofrem alterações. Nos homens, após os 50 anos, a concentração sérica de testosterona apresenta queda de 1% ao ano. Já as concentrações séricas de hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH) parecem se elevar com o envelhecimento (GEBARA, 2002).

Os androgênios, como a testosterona e androsterona, que são hormônios masculinos, encontrados em pequena quantidade nas mulheres, são capazes de aumentar a atividade dos osteoblastos, inibindo a retirada de cálcio do organismo e estimulando o crescimento ósseo. Nas mulheres, os esteroides sexuais femininos, como os estrogênios, agem estimulando a proliferação e a diferenciação dos osteoblastos levando a formação dos ossos, evitando, assim, a perda óssea. (WOLFF, 2012).

Outros fatores que agem nas células ósseas durante a sua diferenciação, são: moléculas circulantes, paratormônio (PTH), hormônio do crescimento (GH), ou não hormonais como a 1,25 di-hidrovitamina D, fator de crescimento semelhante a insulina (IGF 1 e 2) entre outros (WOLFF, 2012). Concentrações séricas suficientes ou insuficientes de vitamina D podem ser definidas por seus efeitos biológicos conhecidos no metabolismo ósseo e mineral, refletidos, particularmente, no aumento do PTH. Dessa forma, a insuficiência de vitamina D leva a um aumento nos níveis de PTH, caracterizando uma alteração na homeostase do cálcio e hiperparatireoidismo secundário (CHAPUY, 1997).

Já em relação ao papel dos antirretrovirais na redução da inflamação, na diminuição da DMO e nos eventos cardiovasculares ainda não estão claros. Sabe-se que a capacidade de restaurar e expandir as células T-CD4⁺ é menor entre pacientes que iniciam tratamento mais tardiamente. Nesse sentido, estima-se que o início mais precoce da TARV esteja inversamente relacionado ao desenvolvimento de complicações crônicas (BRASIL, 2013b).

No que diz respeito a influencia da TARV sob a DMO, estudos têm mostrado risco relativo maior quando utilizados inibidores de protease (CONDE, 2008; GRIGSBY, 2010), sabendo-se que o indinavir inibe a formação óssea e o ritonavir inibe a diferenciação e função dos osteoclastos. Quanto à utilização dos inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa (ITRN), como é o caso do tenofovir, os estudos demonstram que ele pode impedir o processo de mineralização óssea, através de alterações na expressão dos genes dos osteoblastos (CONDE, 2008; GRIGSBY, 2010).

Os fatores que podem contribuir para acelerar a perda óssea são: carências nutricionais, baixos níveis de cálcio sérico, hipogonadismo, hipertireoidismo, hiperparatireoidismo, insuficiência renal, uso de opióides ou heroína, uso de corticosteroides, consumo de álcool e mulheres na pós-menopausa (BRASIL, 2013). Arnsten, et al. (2006), avaliando apenas mulheres, não identificaram relação entre osteopenia/osteoporose e TARV.

O equilíbrio entre a formação e a reabsorção do osso é necessário para manutenção da saúde do esqueleto e qualquer alteração nesse processo pode resultar em diferentes distúrbios, como osteopenia e osteoporose (BRASIL, 2013b). A osteopenia pode ser causada pelos efeitos diretos do vírus sobre as células osteogênicas, ou por ativação persistente de citocinas pró-inflamatórias como TNF α e interleucina-1, por anormalidades mitocondriais, desenvolvimento de doenças oportunistas e por alterações no metabolismo da vitamina D levando a deficiência da 1,25 di-hidrovitamina D (LIMA, 2009; SACCOMANNO; AMMASSARI, 2011).

A perda de massa óssea ocorre quando há deterioração do colágeno formador da matriz orgânica óssea ou um desequilíbrio no processo de remodelação (SHAPSE; RIEDT, 2006). Normalmente ocorre também uma deterioração da arquitetura do osso, resultando na redução do número de trabéculas do osso esponjoso, aumentando a distância intertrabecular levando a uma perda de conectividade trabecular. Uma redução na espessura do osso cortical e o aumento na porosidade do osso trabecular, podem resultar em fragilidade femoral (JACKULIAK; PAYER, 2014).

O teste mais recomendado para o diagnóstico da osteoporose é a medição da densidade mineral óssea pelo DXA (dual energy x-ray absorptiometry) de dois sítios, usualmente o fêmur proximal e a coluna lombar (WHO, 2004). A investigação dessas alterações é recomendada para todos os pacientes portadores do HIV, independentemente do gênero, com idade igual ou superior a 49 anos. Mulheres em período pós-menopausa também devem realizar anualmente esse exame, mesmo em idades inferiores (BRASIL, 2013).

4.3 INFLUÊNCIA DO TENOFOVIR SOB A VITAMINA D

O tenofovir é um ITRN, que bloqueia a ação da enzima transcriptase reversa do HIV, evitando a sua replicação. Seu uso é associado com outros medicamentos antirretrovirais e a maior desvantagem é a nefrotoxicidade, condição comum em indivíduos diabéticos, hipertensos, negros e idosos (BRASIL, 2013).

O TDF não é degradado pelo organismo, ele é filtrado pelo glomérulo e eliminado através da secreção tubular. Altas concentrações intracelulares de TDF em células tubulares podem interferir na função destas células e acarretar efeitos colaterais, em especial quando há uso prolongado (CANALE, 2014). Essas alterações podem ocorrer no metabolismo do fosfato e da vitamina D, levando a uma toxicidade renal (SAMIR; GUPTA, 2008; WOODWAR et. al., 2009).

Quando se associa com o tecido ósseo, através da reabsorção óssea pelos osteoclastos, o tenofovir pode direcionar-se ao núcleo e / ou mitocôndrias, onde pode direta ou indiretamente perturbar a síntese de DNA. O impacto do mesmo na síntese de DNA celular resultaria na expressão do gene alterada, levando a uma diminuição da massa óssea (GRIGSBY, 2010).

Klassen, et al (2012), descobriram que indivíduos em uso do TDF tinham reduzido significativamente a excreção urinária de cálcio e de vitamina D e tinham níveis mais elevados de PTH quando corrigidos para outros fatores em homens que não eram de etnia

branca. O PTH tem como função mobilizar os monócitos da medula óssea para formar osteoclastos maduros, que por sua vez serão estimulados, por uma variedade de citocinas e outros fatores, a aumentar a mobilização do estoque de cálcio dos ossos (HOLICK, 1995; KLASSEN, 2012).

Manter a homeostase do cálcio é vital para o funcionamento normal do sistema nervoso, o crescimento ósseo e para manter a densidade óssea, porém cerca de 30% do cálcio obtido pela dieta será absorvido (IOM, 2011) e essa absorção é realizada através de dois processos: absorção ativa transcelular saturável, estimulada pela 1,25-dihidroxitamina D ($1,25 (\text{OH})_2 \text{D}_3$) e a absorção paracelular não-saturável, independente da forma ativa da vitamina D, determinada pela concentração de cálcio no lúmen intestinal (CHRISTAKOS, 2011).

O cálcio pode ser transportado no sangue ligado à albumina e pré-albumina, complexado com sulfato, fosfato ou citrato, ou em sua forma livre (ionizado) (CHUNG, 2009). A biodisponibilidade deste mineral aumenta quando é solubilizado e pode ser inibido na presença de agentes como o ácido oxálico e ácido fítico, encontrados em alimentos de origem vegetal, que se ligam ao mesmo formando sais de cálcio insolúveis (IOM, 2011). Para homens e mulheres dos 19 aos 50 anos a necessidade média estimada (EAR) de ingestão diária de cálcio é de 800mg (IOM, 2011).

A deficiência de vitamina D é caracterizada por uma inadequada mineralização ou desmineralização do esqueleto que leva à diminuição dos níveis séricos de cálcio ionizado, provocando um aumento na produção e secreção do PTH. Níveis altos de paratormônio provocam um aumento da reabsorção óssea liberando cálcio para a corrente sanguínea para manter a homeostase do cálcio, condição conhecida como hiperparatireoidismo secundário (PETERS; MARTINI, 2014).

Embora a $1,25 (\text{OH})_2 \text{D}_3$ seja o metabolito ativo da vitamina D, a sua concentração é 100 vezes menor do que $25(\text{OH})\text{D}$ e erros ocorrem na medição desses marcadores, por diversos fatores: inicialmente porque a dosagem da $1,25 (\text{OH})_2 \text{D}_3$ é tecnicamente mais difícil e mais sujeita a erros do que $25(\text{OH})\text{D}$ e posteriormente, porque a insuficiência renal e envelhecimento avançado reduzem a 1α -hidroxilase (CYP27B) gerando baixos níveis de $1,25 (\text{OH})_2 \text{D}_3$ independente dos níveis séricos de vitamina D (PAULA; ROSEN, 2011).

A 1α -hidroxilase é regulada pelos níveis séricos de cálcio, fosfato, PTH e pela própria $1,25 (\text{OH})_2 \text{D}_3$. Quando os níveis de cálcio estão reduzidos, ocorre a liberação do PTH pelas glândulas da paratireoide que gera uma maior atividade renal da 1α -hidroxilase e consequentemente um aumento na produção de $1,25 (\text{OH})_2 \text{D}_3$. Para corrigir os níveis séricos

de Ca, a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ diminui a excreção renal do mesmo e estimula sua absorção no lúmen intestinal que por sua vez estimula a maturação dos osteoclastos para a liberação de Ca dos ossos (CANALE, 2014).

A deficiência de vitamina D e a baixa DMO podem contribuir para uma série de complicações clínicas e o aumento da incidência de fraturas (ANSEMANT et. al., 2013; CHILDS et. al, 2012). Unger, et al (2010), observaram que, mesmo após o verão, quase 40% dos voluntários apresentavam níveis inadequados de $25(\text{OH})\text{D}$.

O ser humano pode obter todo o requerimento de vitamina D de que o organismo necessita apenas se expondo de forma adequada à luz solar. Entretanto, a síntese de vitamina D na pele mediada pela luz solar é profundamente afetada por vários fatores, como o grau de pigmentação da pele, a latitude, a hora do dia, estação do ano, as condições do tempo, poluição atmosférica, o vestuário e protetor solar (PETERS; MARTINI, 2014). São diagnosticados com deficiência de vitamina D indivíduos com níveis séricos $< 20\text{ng/mL}$, entre 21 e 29 ng/mL são classificados com insuficiência e $> 30\text{ ng/mL}$ com níveis satisfatórios (SBEM, 2014; HOLICK, et al., 2011).

As recomendações das DRI's definem a necessidade média estimada (EAR) da ingestão diária de vitamina D entre 19 e 50 anos é de 400 UI (IOM, 2011), necessária para manter o metabolismo adequado de cálcio e saúde óssea satisfatória. Sabe-se que o consumo de peixes de águas frias, ovos, castanhas, leite e margarinas fortificados podem auxiliar na melhora dos níveis séricos da vitamina D (BARBOSA, 2013; BRASIL, 2013b; IOM, 2011, PETERS; MARTINI, 2014).

Diante do exposto, estas informações sugerem que a deficiência de vitamina D e a baixa densidade mineral óssea podem se tornar mais prevalentes à medida que mais pacientes usam TARV, aumentando os riscos de desenvolverem osteopenia e osteoporose.

REFERÊNCIAS

ANSEMANT, T. et al. **Severe hypovitaminosis D correlates with increased inflammatory markers in HIV infected patients**. BMC Infectious Diseases, France, p.13-7, 2013.
Available from: < <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/13/7>>. Cited: 18 jan. 2014.

ARNSTEN, J.H. et al. **HIV infection and bone mineral density in middleaged women**. Clin Infect Dis. v.42, n.7, p.1014-20, 2006

ARNSTEN, J.H. et al. **Decreased bone mineral density and increased fracture risk in aging men with or at risk for HIV infection**. Aids, v.21, n.5, p.617-23, 2007.

BARBOSA, E.G.M.M.; NAVARRO, A.M. **Perfil metabólico de cálcio e ósseo de pacientes soropositivos para HIV em uso ou não da terapia antirretroviral**. 2013.115 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição, Araraquara, 2013.

BARBOSA, E.G.M.M. et. al. **Impact of antirretroviral therapy on bone Metabolism markers in HIV-seropositive patients**. Bone, v. 57, n. 1, p.62-7. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. **Recomendações para Terapia Antirretroviral em Adultos Infectados pelo HIV**. 7ª ed. - Brasília, 2008.

_____. Ministério da Saúde. **Síndrome Lipodistrófica em HIV**. 2011. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2011/50427/vers_o_final_63134.pdf>. Acesso em: 05 Jul. 2013.

_____. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico AIDS-DST**, ano II, nº1, 2013. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2013/55559/_p_boletim_2013_internet_pdf_p__51315.pdf>. Acesso em: 18 nov. 2014.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos**. 2013b. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pcdt/7>>. Acesso em: 18 nov. 2014.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV**. Brasília, 2014.

_____. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico AIDS-DST**, ano III, nº1, 2014b. Disponível em:

<http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2014/56677/boletim_2014_1_pdf_60254.pdf>. Acesso em: 18 jan. 2015.

_____. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. **Medicamentos: Quais são os antirretrovirais?** Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/quais-sao-os-antirretrovirais>> Acesso em: 18 nov. 2014.

BROWN, T.T. et al. **Recommendations for Evaluation and Management of Bone Disease in HIV**. Clinical Infectious Diseases Advance. 2015. Disponível em: <http://cid.oxfordjournals.org> Acesso em: 03 fev. 2015.

CANALE, D. **Mecanismo de lesão renal em ratos com deficiência de vitamina D submetidos ao tratamento com tenofovir**. 2014, 104f. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo. Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2014.

CDC - Centers for Disease Control and Prevencion. **HIV Classification: CDC and WHO Staging Systems**. 2012. Disponível em: <[http://www. http://aidsetc.org/guide/hiv-classification-cdc-and-who-staging-systems](http://www.aids.gov/guides/hiv-classification-cdc-and-who-staging-systems)>. Acesso em: 11 fev. 2015.

CHAPUY, M.C. et al. **Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population**. Osteoporos Int.;v.7, p.439-43, 1997.

CHILDS, K. et al. **Effects of vitamin D deficiency and combination antirretroviral therapy on bone in HIV- positive patients**. Aids. v.26, n. 3. p.253-62, 2012.

CHRISTAKOS, S. et al. **Vitamin D and intestinal calcium absorption**. Mol Cell Endocrinol, v. 347, n.1-2, p. 25-9, 2011.

CHUNG, M. et al. **Vitamin D and calcium: a systematic review of health outcomes**. Evid Rep Technol, v. 183, p.1-420, 2009.

CONDE, D.M. et al. Densidade mineral óssea em mulheres de meia-idade com HIV/AIDS: aspectos atuais. Femina.v.36, n. 7, p.455-59. 2008.

CONRADO, T. MIRANDA-FILHO, D.B.; BANDEIRA, F. **Vitamin D deficiency in HIV-infected individuals: one more risk factor for bone loss and cardiovascular disease?** Arq Bras Endocrinol Metab. v.54, n.2, p.118-22, 2010.

COMINETTI, C.; COZZOLINO, S.M.F. Vitamina D (Calciferol). In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 3ªed. Barueri, São Paulo, Manole, 2009. cap. 10, p. 298-99.

DEEKS, S.G. **HIV Infection, Inflammation, Immunosenescence, and Aging**. Annu Rev Med. Author manuscript, v.62, p.141–55, 2011.

DEEKS, S.G.; LEWIN, S.R.; HAVLIR, D.V. **The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease**. The Lancet, v. 382, 2013.

DEEKS, S.G.; TRACY, R.; DOUEK, D.C. **Systemic Effects of Inflammation on Health during Chronic HIV Infection**. Immunity. 2013b v. 39, n.4, p.633–45.
doi:10.1016/j.immuni.2013.10.001

DUTRA, C.D.T.; LIBONATI, R.M.F. **Abordagem metabólica e nutricional da lipodistrofia em uso da terapia anti-retroviral**. Rev. Nutr., Campinas, v.21, n.4, p.439-46, 2008.

FALCATO, R.G. et al. **Perfil de pacientes HIV positivo com lipodistrofia**. Medicina. Ribeirão Preto, v.44, n.1, p.87-93, 2011.

FERREIRA, B.E.; OLIVEIRA, I.M.; PANIAGO, A.M. **Quality of life of people living with HIV/AIDS and its relationship with CD4+ lymphocytes, viral load and time of diagnosis**. Rev Bras Epidemiol. São Paulo, v. 15, n. 1, p. 75-84, 2012.

FIORENZA, C.G.; CHOU, S.H.; MANTZOROS, C.S. **Lipodystrophy: Pathophysiology and Advances in Treatment**. Nat Rev Endocrinol, v.7, n.3, p.137–150, 2011.

FONSECA, C.L. et al. **Evaluation of inadequate anti-retroviral treatment in patients with HIV/AIDS**. Rev. Soc. Bras. Med. Trop, v. 45, n. 2, p. 151-155, 2012.

GEBARA, O.C.E. et al. **Efeitos Cardiovasculares da Testosterona**. Arq Bras Cardiol, v. 79, n. 6, p.644-9, 2002.

GILL, U.S. et al. **Assessment of Bone Mineral Density in Tenofovir-Treated Patients With Chronic Hepatitis B: Can the Fracture Risk Assessment Tool Identify Those at Greatest Risk?** Journal of Infectious Diseases. v.211, n.3, p.374-82. 2015. Disponível em: <<http://jid.oxfordjournals.org/content/early/2014/10/03/infdis.jiu471.long>> Acesso em: 18 ago. 2015.

GRIGSBY, I.F. **Tenofovir treatment of primary osteoblasts alters gene expression profiles: implications for bone mineral density loss.** Biochem Biophys Res Commun; v.394, n.1, p.48–53, 2010.

GRIGSBY, I.F. **Tenofovir-associated bone density loss.** Ther Clin Risk Manag.; v.6, p.41–7. 2010b.

HANDELSMAN, Y. et al. **The Clinical approach to the detection of lipodystrophy.** An AACE consensus statement. Endor pract. v.19, n.1, p. 107-16. 2013.

HARRISON, G.G.B.E. et al. Skinfold thicknesses and measurement technique. In: Lohman TG, Roche AF, Martorell RI(eds) **Anthropometric standardisation reference manual.** Human Kinetics Champaign IL, p. 55-70, 1988.

HAVERS, F.P.; DETRICK, B.; CARDOSO, S.W. **Change in Vitamin D Levels Occurs Early after Antirretroviral Therapy Initiation and Depends on Treatment Regimen in Resource-Limited Settings.** Plos One, v. 9, 2014.

HAVENS, P.L. et. al. **Association of Higher Plasma Vitamin D Binding Protein and Lower Free Calcitriol Levels with Tenofovir Disoproxil Fumarate Use and Plasma and Intracellular Tenofovir Pharmacokinetics: Cause of a Functional Vitamin D Deficiency.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy. v. 57, n.11, p. 5619–5628, 2013.

HOLICK, M.F. **Noncalcemic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and clinical applications.** Bone, v.17, (2 Suppl):107S-11S, 1995.

HOLICK, M.F. et al. **Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline.** J Clin Endocrinol Metab, v. 96, n.7,p.1911–1930, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2011-0385>

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Pesquisa Nacional de Saúde 2013. **Manual de Antropometria.** Laboratório de Avaliação Nutricional de Populações – LANPOP, Rio de Janeiro, 2013.

INSTITUTE OF MEDICINE - IOM. Food and Nutrition Board. **Dietary reference intakes (DRIs): Estimated Average Requirements for Groups**. Washington, D. C. National Academies, 2002. Disponível em: <<http://www.nap.edu.br>> Acesso em: 05 mai. 2015.

INSTITUTE OF MEDICINE - IOM. DRI's. **Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids**. 2005. Disponível em: <http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10490#orgs>. Acesso em: 20 mai. 2013.

INSTITUTE OF MEDICINE - IOM DRI's. **Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D**. 2011. Available from: <http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=13050>. Cited: 11 sept 2013.

ISCD - The International Society for Clinical Densitometry. **Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry**. 2005. Disponível em: www.iscd.org. Acesso em: 13 fev. 2015.

JACKULIAK, P.; PAYER, J. **Osteoporosis, fractures, and diabetes**. Inter. Journ. of Endocrin, v. 10, 2014.

KLASSEN, K. et al. **The Effect of Tenofovir on Vitamin D Metabolism in HIV Infected Adults Is Dependent on Sex and Ethnicity**. Plos One. v. 7,n.9, 2012.

LIMA, A.L.L.M. et al. **Alterações ortopédicas na aids**. Rev Bras Ortop. v.44, n.3, p.186-90, 2009.

MELCHIOR, J.C., et al. **Resting energy expenditure in human immunodeficiency virus-infected patients: Comparison between patients with and without secondary infections**. Am J Clin Nutr. v.57, n.5, p.614-9, 1993.

MURPHY, M.J. **Bone mineral density loss is common complication in HIV infection**. HIV Clinician, v. 21, n. 3, p. 1-4, 2009.

PAULA, F.J.A.; ROSEN, C.J. **Vitamin D safety and requirements**. Arch. Biochem. Biophys. 2011, doi:10.1016/j.abb.2011.12.002

PETERS, B.S.E.; MARTINI, L.A. **Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes - Vitamina D**. ILSI - International Life Sciences Institute do Brasil. 2^a ed. 2014.

PLUM, L.A.; DELUCA, H.F. **Vitamin D, disease and therapeutic Opportunities** . Nature Reviews Drug Discov. v.9, p. 941-955, 2010.

QUAGLIARELLO, V. **The Acquired Immunodeficiency Syndrome: Current Status**. Yale J Biol Med, v. 55, n. 5-6, p. 443-452, 1982.

SACCOMANNO, M.F.; AMMASSARI, A. **Bone disease in HIV infection**. Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism, v.8, n.1, p.33-6, 2011.

SAMIR, K.; GUPTA, M.D. **Tenofovir-Associated Fanconi Syndrome: Review of the FDA Adverse Event Reporting System**. AIDS patient care and STDs v. 22, n. 2, p.99-103 2008. DOI: 10.1089/apc.2007.0052

SEPKOWITZ, K.A. **AIDS – The First 20 Years**. N Engl J Med. v.344, n.23, p.1764-1772, 2001.

SHAPSES, S. A.; RIEDT, C. S. **Bone, Body Weight, and Weight Reduction: What Are the Concerns?** J. Nutr., v. 136, p.1453-1456, 2006.

SILVA, A.G.H.; COZZOLINO, S.M.F. Cálcio. In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 3ªed. Barueri, São Paulo, Manole, 2009. cap. 23, p. 525-27.

SINGER, J. **A simple procedure to compute the sample size needed to compare two independent groups when the population variances are unequal**. Statistics in Medicine. v.20,n.7, p.1089-95, 2001.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA (SBEM). **Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D**. Arq Bras Endocrinol Metab. v.58, n.5, 2014.

SOTO-RIFO, R. et al. **Different effects of the TAR structure on HIV-1 and HIV-2 genomic RNA translation**. Nucleic Acids Res, v. 40, n. 6, p. 2653-67, 2012.

SUDHARSHAN, S.; BISWAS, J. **Introduction and immunopathogenesis of acquired immune deficiency syndrome**. Indian J Ophtalmol, v. 56, n.5, p. 357-362, 2008.

SUTINEN, J.; YKI-JARVINEN, H. **Increased resting energy expenditure, fat oxidation, and food intake in patients with highly active antirretroviral therapy-associated lipodystrophy.** *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, Bethesda. v. 292, n.3, p. 687-692, 2007.

TACO - **TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS** 4^a. ed. revisada e ampliada. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco/tabela/>> Acesso em: 9 dezembro 2012.

UNAIDS/WHO – Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS)/World Health Organization (WHO). **Aids epidemic update 2011.** Disponível em: <http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/unaidspublication/2011/JC2216_WorldAIDSday_report_2011_en.pdf> Acesso em: 8 dez. 2012.

UNGER, M.D. et al. **Vitamin D status in a sunny country: Where has the sun gone?** *Clinical Nutrition*. v.29, p.784-88, 2010.

USDA - **National Nutrient Database for Standard Reference.** Disponível em: <<http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>> Acesso em: 9 dez. 2012.

VALENTE, A.M.M. et al. **Alterações Metabólicas na Síndrome Lipodistrófica do HIV.** *Arq Bras Endocrinol Metab*. v. 49, n. 6, 2005.

VASSIMON, H.S. et al. **Which equation should be used to measure energy expenditure in HIV-infected patients?** *Rev. Nutr., Campinas*, v.26, n.2, p.225-32, 2013.

VERMUND, S.H.; BROWN, A.J.L. **The HIV Epidemic: High-Income Countries.** *Cold Spring Harb Perspect Med*, v. 2, n. 5, 2012. doi: 10.1101/cshperspect.a007195.

WASTI, S.P. et al. **Factors influencing adherence to antirretroviral treatment in Nepal: a mixed-methods study.** *PLoS One*, v. 7, n. 5, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0035547.

WEISS, R.A. **Twenty-five years of human immunodeficiency virus research: successes and challenges.** *Clin Exp Immunol*, v. 152, n. 2, p. 201-10, 2008.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis.** WHO Technical Report Series, 843. Geneve, 1994.

WHO - ORGANIZATION WH. **Physical Status: The Use and Interpretation of Anthropometry**. Report of a WHO Expert Committee. Geneve, 1995.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: WHO**. Report of a WHO Consultation on Obesity. 1998.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Scientific group on the assessment of osteoporosis at primary health care level**. Summary Meeting Report. Brussels, Belgium. 2004.

WOLFF, R.B. et al. **Aspectos moleculares dos esteroides sexuais sobre a cartilagem e os ossos**. Rev Assoc Med Bras, v. 58, n.4, p.493-97, 2012.

WOODWARD, C.L.N.; et al. **Tenofovir-associated renal and bone toxicity**. British HIV Association. HIV Medicine, v.10, p.482–87, 2009.

CAPÍTULO II

Title: Vitamin D insufficiency in HIV-positive patients treated with tenofovir-containing antirretroviral therapy

Short title: Vitamin D insufficiency in use of antirretroviral

Authors: Jéssika Carvalho Maria^a, Erika Grasiela Marques de Menezes^a, Bárbara Beltrame Bettim^b, Gleici da Silva Castro Perdoná^b, Rodrigo de Carvalho Santana^c, Francisco José Albuquerque de Paula^d Anderson Marliere Navarro^d.

^a Department of Food and Nutrition, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo - UNESP.

^b Health Risk Study Center - CER, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo - FMRP/USP.

^c Division of Infectious and Tropical Diseases, Department of Internal Medicine, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo - FMRP/USP.

^d Department of Internal Medicine, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo - FMRP/USP.

Corresponding author and address for correspondence:

Erika Grasiela Marques de Menezes

Avenue Bandeirantes, 3900 – Monte Alegre; City: Ribeirão Preto – SP

Zip Code: 14049-900

e-mail: erikagmm7@yahoo.com.br

Artigo submetido à: *Clinical Nutrition*

Qualis A1

RESUMO

Introdução: A vitamina D é um nutriente essencial para a mineralização do esqueleto e manutenção de massa óssea. Evidências recentes têm demonstrado uma alta prevalência de deficiência de vitamina D em infectados pelo HIV, principalmente em uso de tenofovir (TDF), por afetar as células tubulares renais, causando a perda de eletrólito e a redução da massa óssea. **Objetivo:** avaliar os efeitos do tenofovir nos níveis séricos de vitamina D e seu impacto sobre a densidade mineral óssea em pacientes sob regime de tenofovir *versus* não tenofovir. **Metodologia:** Estudo transversal com 127 indivíduos, de ambos os sexos, com idades entre 18 e 60 anos. Os participantes foram subdivididos em 3 grupos, sendo: grupo em uso do tenofovir (GTDF+): n= 48 participantes, grupo sem uso de tenofovir (GTDF-): n= 49 participantes e grupo controle (GC): n= 30 participantes soronegativos para HIV. Realizou-se dual energy x-ray absorptiometry (DXA) para avaliação da densidade mineral óssea (DMO) e composição corporal. Amostras de sangue periférico foram coletadas para determinações da 25 hidroxivitamina D (25(OH)D), hormônio da paratireoide (PTH), hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH), testosterona, estradiol, creatinina, uréia, albumina, cálcio, magnésio e fósforo. Calculou-se a taxa de filtração glomerular e avaliação do consumo alimentar. **Resultados:** A vitamina D apresentou valores séricos insuficientes em todos os grupos do estudo, enquanto a ingestão dietética mostrou inadequação. O grupo GTDF+ apresentou valores séricos menores de vitamina D quando observado com os valores do grupo GTDF-, e 31% dos pacientes em uso de TDF apresentaram deficiência sérica. Observou-se que até 25% dos participantes em uso de tenofovir apresentaram osteopenia, principalmente no sítio ósseo da coluna lombar, enquanto para o grupo sem tenofovir a porcentagem foi maior para osteoporose. **Conclusão:** A maioria dos participantes infectados pelo HIV sob regime ou não de tenofovir apresentou insuficiência de vitamina D e níveis deficientes principalmente para o grupo sob o regime de tenofovir. A redução de massa óssea foi observada principalmente no sítio ósseo da coluna lombar em participantes sob o regime ou não de tenofovir. Apesar dos resultados observados em insuficiência/deficiência de vitamina D e redução da massa óssea, não foi determinado o regime de drogas antirretrovirais que mais afetaria para a disfunção do metabolismo da vitamina D e perda da massa óssea.

Palavras-chave: Insuficiência de vitamina D, densidade mineral óssea, HIV, terapia antirretroviral, tenofovir.

1. INTRODUÇÃO

A alta prevalência de insuficiência/deficiência de vitamina D em pacientes infectados pelo HIV tem sido evidenciada em muitos estudos. Apesar do sucesso e a eficácia no tratamento da terapia antirretroviral (TARV), os efeitos adversos estão bem conhecidos por afetar o metabolismo da vitamina D [1,2].

Alguns regimes de classes antirretrovirais, como os inibidores de protease são conhecidos por inibir as principais enzimas envolvidas no metabolismo da vitamina D, tais a 1α -hidroxilase e a 25-hidroxilase e isto pode conduzir para uma diminuição do calcitriol [3]. Ao contrário para os inibidores de transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos que induz a expressão da enzima 24-hidroxilase para metabolizar a forma ativa da vitamina D às formas moleculares inativas, 24,25-diidroxicolecalciferol e 24,24-diidroxiergocalciferol, e isto está associado com a deficiência da vitamina D [4,5]

Dentro dos regimes de drogas antirretrovirais, tem destacado o fumarato de tenofovir disoproxil (TDF), considerado um inibidor de transcriptase reversa análogo de nucleosídeos amplamente utilizado como terapia de primeira linha para pacientes infectados pelo HIV e por sua toxicidade renal, óssea e endócrina [6]. O TDF não é degradado pelo organismo, ele é filtrado pelo glomérulo e eliminado através da secreção tubular. Altas concentrações intracelulares de TDF em células tubulares podem interferir na função destas células e acarretar em efeitos adversos, tais alterações no metabolismo do fosfato e da vitamina D, alterações na expressão de genes e na função dos osteoblastos [7].

Quando se associa com o tecido ósseo, através da reabsorção óssea pelos osteoclastos, o tenofovir pode direcionar-se ao núcleo e / ou mitocôndrias, onde pode direta ou indiretamente perturbar a síntese de DNA que resultaria na expressão do gene alterada, levando a uma diminuição da massa óssea [8].

Vários fatores podem influenciar no status da vitamina D e na saúde óssea de pacientes infectados pelo HIV, como o efeito direto do vírus sobre células osteogênicas, por ativação persistente de citocinas pró-inflamatórias, baixa contagem de linfócitos T CD4+, aumento virêmico, o uso de antirretrovirais, alterações hormonais, idade mais avançada, excesso de peso, consumo inadequado de vitaminas e minerais, tabagismo e etilismo [9,10]. Além disto, a insuficiência/deficiência de vitamina D pode aumentar os níveis de PTH, caracterizando uma alteração na homeostase do cálcio e hiperparatireoidismo secundário [11]. Desta maneira, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do tenofovir nos níveis séricos de vitamina D e seu impacto sobre a densidade mineral óssea em pacientes sob regime de tenofovir *versus* não tenofovir.

2. CASUÍSTICA E MÉTODOS

Estudo transversal com 127 indivíduos, de ambos os sexos, com idades entre 18 e 60 anos. Os participantes foram subdivididos em três grupos, sendo: grupo em uso do tenofovir (GTDF+): 48 participantes, grupo sem uso de tenofovir (GTDF-): 49 participantes e grupo controle (GC): 30 participantes soronegativos para HIV. Foram considerados como fatores de exclusão: indivíduos hospitalizados, uso de suplementos de cálcio ou vitamina D, uso de medicamentos para tratamento de osteoporose, história de tireoidectomia prévia, presença de insuficiência renal ou hepática, hepatites B e C, gestantes e mulheres na menopausa recebendo terapia de reposição hormonal.

Os participantes foram recrutados na Unidade Especial de Tratamento para Doenças Infecciosas (UETDI) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP). O estudo obteve aprovação do Comitê de Ética do HCFMRP-USP, processo nº 627.856/2014 e todos participantes deram seu consentimento livre e esclarecido para participar deste estudo.

Foram coletados os seguintes dados: idade, sexo, origem étnica, estação do ano, presença de doenças crônicas não-transmissíveis como diabetes, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia, tabagismo, etilismo e índice de massa corporal (IMC). Foi realizada uma revisão dos prontuários do HCFMRP-USP, para a coleta de informações sobre o tempo de exposição da infecção pelo HIV, tempo de uso do tratamento antirretroviral, a contagem das células T CD4+ e a quantificação da carga viral.

2.1 Avaliação Antropométrica

Foram mensurados peso e estatura e o índice de massa corporal (IMC) foi calculado pela fórmula ($\text{peso}/\text{altura}^2$). Os participantes foram classificados de acordo com a recomendação da OMS, 1998 [12]. A composição corporal (massa magra e massa gorda) foi analisada pela *dual energy x-ray absorptiometry* (DXA).

2.2 Avaliação Dietética

A avaliação dietética foi realizada por registro alimentar de três dias. Os participantes foram orientados a preencherem os formulários logo após se alimentarem para minimizar os erros e evitar prováveis subnotificações. Os dados dietéticos obtidos em medidas caseiras foram convertidos para grama e mililitro, a fim de possibilitar a análise química do consumo alimentar e as informações foram processadas por meio do programa de análise nutricional *Nutrilife 8.0*. A recomendação do consumo de energia, macronutrientes, vitamina D, cálcio, magnésio e fósforo foram considerados os conceitos propostos pela *Dietary Reference Intakes* (DRIs) [13]. Foi considerado na avaliação dietética a média do consumo de macronutrientes, cálcio, fósforo, magnésio e vitamina D obtidos nos três registros alimentares.

2.3 Avaliação Óssea

Foi realizada a DXA (*Dual energy x-ray absorptiometry*) para avaliar a Densidade Mineral Óssea (DMO) do corpo total, quadril total e fêmur [20], utilizando o aparelho Hologic QDR 4500A scanner; Hologic Inc., Waltham, MA, USA do serviço de Radiologia do HCFMRP-USP.

De acordo com a *International Society for Clinical Densitometry* – ISCD, foram classificados em: a) “abaixo do estimado para a faixa etária”: $Z\text{-score} \leq -2,00$; b) “dentro do estimado para a faixa etária”: $Z\text{-score} > -2,00$ [14].

O exame foi realizado de acordo com os procedimentos padrões posicionando o indivíduo em decúbito dorsal durante a fase de realização do exame, sem objetos de metais ou sapatos. O exame foi realizado pela varredura total do corpo.

2.4 Análises Bioquímicas

Para as análises bioquímicas foram realizadas coletas de sangue venoso periférico após 12 horas de jejum. Após a coleta, as amostras de sangue foram centrifugadas e o soro obtido foi armazenado em freezer a -80°C até o momento das análises.

Amostras de sangue periférico foram coletadas para determinações da 25 hidroxivitamina D (25(OH)D) pelo método de quimioluminescência (CLIA), utilizando o teste LIAISON® 25-OH Vitamina D. O perfil de vitamina D foi definido como deficiente ($\leq 20 \text{ ng/mL}$); insuficiente (de 21 a 29 ng/mL) e suficiente ($\geq 30 \text{ ng/mL}$) [15].

As concentrações de PTH, LH, FSH, testosterona e estradiol foram realizadas pelo método de imunoquimioluminescência (ICMA) com o analisador IMMULITE® 1000. A creatinina, ureia e albumina foram realizadas pelo método calorimétrico, usando os Kits da Labtest® e o aparelho Spectra Max M5 da Molecular Devices®. Para determinar a concentração sérica de cálcio total, magnésio e fósforo utilizou-se espectrômetro de massa

equipado com plasma indutivamente acoplado (DRC-ICP-MS ELAN DRCII, Perkin Elmer, Sciex, Norwalk, CT, EUA), operando com argônio de alta pureza (99,999%, Praxaair, Brasil).

Para avaliar a função renal, foi utilizada a seguinte fórmula: Depuração de creatinina = $[(140 - \text{idade}) \times \text{peso}] / \text{creatinina sérica} \times 72$ ($\times 0,85$ para mulheres) e considerou alteração da função renal valores < 60 mL/min. pela equação Cockcroft-Gault (CG) [16].

A quantificação dos linfócitos T CD4⁺ foi analisado por citometria de fluxo, utilizando o Kit Multitest® e a quantificação da carga viral determinada por quimiluminescência através do Kit Versant® HIV-1 RNA 3.0.

Os valores de referência dos marcadores bioquímicos foram demonstrados na tabela 2. Usou-se os parâmetros de Young (1987) como referência para o cálcio total, magnésio e fósforo [17]. O valor de referência de 25(OH)D (ng/mL) foi indicado pelo Kit Liaison® para a população norte americana. Para o PTH, FSH, LH, testosterona e estradiol seguiram-se o valor de referência indicado pelo Kit Immulite® e para albumina, creatinina e uréia o valor de referência do Kit Labtest®. Os valores de referência para linfócitos T CD4⁺ foram os publicados pelo Ministério da Saúde [18]. Para a quantificação da carga viral foi considerado viremia indetectável para os valores menores que 50 cópias/mL HIV RNA proposto pelo Kit Versant®.

2.5 Análises Estatísticas

Primeiramente realizou-se uma análise exploratória dos dados com o auxílio *software* SAS® 9.2, utilizando a *PROC MEANS*. Para a comparação das variáveis contínuas em 3 grupos, foi proposto o teste de Kruskal Wallis e nos casos onde houve diferença entre algum par de grupos, foi feito o pós-teste de Dunn. Os resultados foram obtidos com o auxílio do *software* R [19].

Para verificar a associação entre as variáveis categóricas e os grupos, foi proposto o teste de Qui-quadrado. Este procedimento foi realizado através do *software* SAS® 9.2, utilizando a *PROC FREQ* [19].

O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para determinar correlações entre as variáveis contínuas. Para a regressão logística múltipla, as variáveis independentes associadas com a vitamina D <30 ng / mL e > 30 ng / mL, foram avaliados através da seleção para Backward baseado no teste de Wald, assumindo um valor de p maior do que 0,10 para a eliminação da variável do modelo. Os resultados foram obtidos através do auxílio do *software* SAS® 9.2 [20].

Para a comparação dos grupos, em relação às variáveis: 25(OH)D, DMO da coluna lombar, DMO do quadril total, e a DMO do corpo inteiro, primeiramente foi realizado um método de seleção de variáveis a partir de um conjunto de variáveis independentes. Para associar as variáveis de interesse foram ajustados modelos de regressão linear, utilizando o R^2 ajustado. Para a comparação dos grupos, nas variáveis de interesse, foram ajustados por modelos de ANOVA. Para as análises estatísticas os resultados foram obtidos através do auxílio do *software* SPSS® 17.0.1 [21]. P-valores inferiores a 0,05 foram considerados significativos.

3. RESULTADOS

Nossa amostra incluiu 127 participantes para as análises (**Tabela 1**), sendo 97 participantes soropositivos para HIV em uso ou não de TDF e 30 participantes saudáveis do grupo controle. A maioria dos participantes era do sexo masculino (66%), sendo 17% classificados como negros.

Todos os grupos foram classificados como eutróficos pelo índice de massa corporal de acordo com a classificação da OMS [12] e a idade foi maior para o grupo sem TDF ($44 \pm 9,1$

anos) com diferença significativa apenas com o grupo controle ($p < 0,001$). A composição de gordura corporal foi maior para os homens do grupo controle do que para os homens em uso de TARV e apresentou diferença significativa ($p < 0,05$), enquanto para as mulheres a massa gorda foi maior para o grupo em uso de antirretrovirais.

Em relação aos dados coletados de doenças crônicas não transmissíveis (diabetes, hipertensão e dislipidemia) foi observada maior porcentagem de dislipidemia apenas entre os grupos HIV+ e 15% dos participantes do grupo GTDF+ apresentou diabetes *mellitus* com diferença significativa com o grupo GTDF- ($p < 0,05$). Quanto ao tabagismo e etilismo, observamos maior porcentagem de tabagistas e etilistas no grupo GTDF- e menor para o grupo controle com diferença significativa para o tabagismo entre os grupos GTDF- e GC ($p < 0,05$).

As análises bioquímicas foram demonstradas em média e desvio padrão na **Tabela 2**. Observamos que a 25(OH)D estava insuficiente em todos os grupos. Quando avaliamos os participantes foi observado deficiência de vitamina ($< 20\text{ng/mL}$) em 31% dos participantes do grupo GDTF+, 20% participantes do GTDF- e 30% participantes do GC e níveis de insuficiência (21-29 ng/mL) em 31%, 39%, e 40%, respectivamente (dados não mostrados em tabela). Foi comparado por sexo os valores da 25(OH)D entre os participantes que utilizavam a TARV e as mulheres apresentaram valores médios de 23,6 ng/mL e os homens de 28,9 ng/mL (dados não apresentados em tabela).

Os participantes em uso de TDF entre os períodos de 60 e 120 meses apresentaram 25(OH)D valores médios de 27,8 ng/mL e 22,9 ng/mL, respectivamente e para os participantes sem uso de TDF os valores médios foram de 32,5 ng/mL e 25,0 ng/mL (dados não apresentados em tabelas).

Os demais marcadores bioquímicos mostraram valores dentro dos limites aceitáveis. Apesar dos valores de PTH apresentarem dentro dos limites aceitáveis em todos os grupos,

observou-se que o grupo GTDF+ apresentou maiores valores de PTH e houve diferença significativa entre o grupo GTDF- e o GC ($p<0,05$). Para o LH e albumina houve diferença entre o grupo HIV+ com o grupo controle ($p<0,05$).

A avaliação do consumo alimentar e as recomendações de macro e micronutrientes foram descritas na **Tabela 3**. Observamos que os grupos apresentaram um consumo energético, de carboidratos, proteínas e lipídeos abaixo do recomendado. O consumo de vitamina D, cálcio e magnésio—estavam abaixo do recomendado e houve diferença significativa entre as mulheres do GTDF+ e GC para a ingestão de cálcio e magnésio ($p<0,05$).

Nas leituras do DXA, por sítio ósseo, observou-se que até 25% dos participantes em uso de tenofovir apresentaram osteopenia, principalmente no sítio ósseo da coluna lombar, enquanto para o grupo sem tenofovir a porcentagem foi maior para osteoporose (**Tabela 4**).

Na **Tabela 5** correlacionamos os valores da 25(OH)D com as variáveis contínuas e encontramos correlação significativa com a massa gorda ($r=-0,266$; $p=0,008$), FSH ($r=-0,260$; $p=0,01$) e LH ($r=-0,243$; $p=0,02$). Realizamos uma regressão logística múltipla para os pacientes infectados pelo HIV com valores de 25(OH)D $<30\text{ng/mL}$ e $>30\text{ng/mL}$ como variável dependente e não encontramos diferença significativa (dados não apresentados em tabela).

A **Tabela 6** apresenta os resultados de 4 modelos de regressão linear ajustados entre os grupos soropositivos para HIV a fim de verificar os possíveis efeitos que as variáveis independentes poderiam influenciar na 25(OH)D e na densidade mineral óssea da coluna lombar, quadril total e corpo total. Para cada modelo foram excluídas as variáveis com maior p-value até obtermos um modelo somente com variáveis significativas.

4. DISCUSSÃO

No presente estudo observamos que a maioria dos indivíduos infectados pelo HIV em uso de antirretrovirais apresentou níveis séricos insuficientes de vitamina D. Apesar de não encontrarmos diferença significativa para os valores de 25(OH) D entre os pacientes em uso ou não de tenofovir, foi identificada maior porcentagem de deficiência para os indivíduos sob o regime de tenofovir e isto afirmou a repercussão atual que o tenofovir pode interferir na função das células tubulares afetando o metabolismo da vitamina D e disfunção das células ósseas [7].

Nota-se que o grupo em uso de TDF apresentou maiores valores de PTH, apesar de apresentarem dentro dos limites aceitáveis, isto poderia mediar os níveis séricos da vitamina D, tanto que um estudo realizado em Nova York investigou o status da vitamina D e o uso do TDF em níveis de PTH entre os pacientes infectados pelo HIV demonstrando que tanto a utilização de TDF e o status da vitamina D influenciaram nos valores de PTH [20]. Ao mesmo tempo o mecanismo subjacente à associação entre o uso de TDF e o aumento do PTH não foi investigado em nosso estudo e suponhamos que o mecanismo pode ser semelhante ao responsável por elevações de PTH em pacientes que tomam outras medicações que afetam a densidade mineral óssea [23].

Um aspecto interessante em nosso estudo que o uso prolongado de tenofovir apresentou menores valores séricos de vitamina D em relação ao mesmo tempo de uso de outros antirretrovirais e vale ressaltar que o grupo TDF+ apresentou maior exposição à infecção pelo HIV, menores valores da quantificação dos linfócitos T CD4+ e maior porcentagem da viremia detectável contribuindo para uma inflamação crônica mediada pelo vírus e a toxicidade dos antirretrovirais que podem potencializar as alterações metabólicas e ao surgimento de doenças crônicas não transmissíveis como a dislipidemia, hipertensão arterial e diabetes *mellitus* [24]

Um estudo realizado em Israel com 75 pacientes infectados pelo HIV demonstrou que o longo tempo de exposição da infecção pelo HIV não correlacionou com a deficiência da 25(OH)D [9] e isto foi similarmente observado em nosso estudo, tal como para a quantificação do RNA do HIV que não encontramos associação com a vitamina D. Outro estudo realizado nos Estados Unidos avaliando a prevalência de deficiência de vitamina D em 200 pacientes soropositivos para HIV não encontraram associação entre a quantificação da carga viral e a vitamina D [25]. Enquanto para um estudo retrospectivo realizado na Bélgica demonstrou associação significativa entre os níveis de vitamina D com a quantificação do RNA do HIV quando estavam acima de 50 cópias/mL [26].

Outros fatores de riscos podem influenciar os níveis séricos de vitamina D, tais como a idade avançada, excesso de peso, etilismo, tabagismo, consumo inadequado de vitaminas e minerais, aumento da concentração sérica de paratormônio e baixa concentração de hormônios gonadais [10]. Dentre estes fatores de riscos, destacamos que a maioria não mostrou correlação significativa com o status da vitamina D, exceto para o LH e a massa gorda que apresentou correlação negativa com a vitamina D.

Ao mesmo tempo observamos que a inadequação da ingestão alimentar de cálcio, magnésio e vitamina D contribuem para danos ao metabolismo ósseo e mineral [27], além disso, apenas os participantes soropositivos para HIV apresentou dislipidemia sendo considerado um fator de risco para o diabetes *mellitus* [24], no qual em nosso estudo observamos 7 participantes diabéticos sob o regime de TDF, o que poderia contribuir para a deficiência de vitamina D [24].

Apesar de algumas limitações em não ter avaliado marcadores envolvidos na função renal e do metabolismo ósseo, nós avaliamos a densidade mineral óssea através da DXA considerado padrão-ouro para diagnóstico da saúde óssea, já que a vitamina D influencia para a adequada manutenção da massa óssea [28].

É amplamente reconhecido que o risco de fraturas é maior nessa população, dadas às complicações metabólicas complexas da infecção e seu tratamento [29] e no presente estudo a redução de massa óssea foi encontrada em pacientes sob o regime ou não de tenofovir. Ao analisar os coeficientes de determinação (R^2) dos modelos de regressão linear observamos que massa magra estava associada com os modelos da DMO da coluna lombar, do quadril total e do corpo total.

Apesar dos resultados observados em insuficiência/deficiência de vitamina D e redução da massa óssea, nós não conseguimos confirmar associação significativa entre a vitamina D, tenofovir e diminuição da densidade mineral óssea, tanto que outro estudo realizado nos Estados Unidos com 214 participantes infectados pelo HIV demonstrou que o uso da TARV leva a perda da densidade mineral óssea no quadril de 0,8% ao ano e na coluna lombar de 0,4% ao ano, porém não foi determinada a classe de antirretroviral que mais afetaria a massa óssea [29].

O *Institute of Medicine* (IOM) considera suficiente para a manutenção da homeostase óssea de praticamente todos os indivíduos saudáveis valores de 20ng/mL de 25 (OH)D [30]. Contudo, apesar de os níveis adequados de vitamina D serem objeto de discussão, valores de 25(OH)D maiores que 30 ng/mL foram considerados em nosso estudo por ser o ponto de corte mais adotado por vários estudos em pacientes infectados pelo HIV [2;4;9;10].

Portanto, no presente estudo a maioria dos participantes infectados pelo HIV sob regime ou não de tenofovir apresentou insuficiência de vitamina D e níveis deficientes principalmente para o grupo sob o regime de tenofovir. A redução de massa óssea foi observada principalmente no sítio ósseo da coluna lombar em participantes sob o regime ou não de tenofovir. Apesar dos resultados observados em insuficiência/deficiência de vitamina D e redução da massa óssea, não foi determinado o regime de drogas antirretrovirais que mais afetaria para a disfunção do metabolismo da vitamina D e perda da massa óssea.

Assim, é importante considerar que o tenofovir e as demais terapias antirretrovirais são utilizadas por período prolongado no tratamento para HIV/Aids e a monitorização dos efeitos adversos são necessários para melhor manejo clínico a fim de reduzir alterações no metabolismo da vitamina D e danos na saúde óssea em pacientes infectados pelo HIV.

5. FINANCIAMENTO

Os autores gostariam de agradecer a Unidade de Tratamento Especial de Doenças Infecciosas do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Brasil; a Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência - FAEPA do HCRP-FMRP; a Unidade de Pesquisa Clínica - UPC do HCRP-FMRP por apoiar esta pesquisa e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) processo nº. 2013/10765-4 apoio prestado a Erika Grasiela Marques de Menezes. Os autores são gratos a todos os voluntários que aceitaram participar do estudo.

6. CONFLITO DE INTERESSES

Os autores: Jéssika, Carvalho Maria, Erika Grasiela Marques de Menezes, Gleici da Silva Castro Perdoná, Rodrigo Carvalho Santana, Francisco José Albuquerque de Paula Anderson Marliere Navarro. Os autores declaram que não ter qualquer conflito de interesses.

7. REFERÊNCIAS

- [1] Deeks SG, Tracy R, Douek DC. systemic Effects of Inflammation on Health during Chronic HIV Infection. *Immunity* 2013; 39: 633–645. Doi:10.1016/j.immuni.2013.10.001
- [2] Childs K, Fishman S, Constable C, et al. effects of vitamin D deficiency and combination antirretroviral therapy on bone in HIV- positive patients. *Aids* 2012; 26: 253-262. Doi: 10.1089/aid.2009.0308
- [3] Cozzolino M, Vidal M, Arcidiacono MV, et al. HIV-protease inhibitors impair vitamin D bioactivation to 1,25-dihydroxyvitamin D. *Aids* 2003;17: 513–520
Doi: 10.1097/01.aids.0000050817.06065.f8
- [4] Dao CN, Patel P, Overton ET, et al. low vitamin D among HIV-infected adults: prevalence of and risk factors for low vitamin D Levels in a cohort of HIV-infected adults and comparison to prevalence among adults in the US general population. *Clin Infect Dis* 2011; 52: 396–405. Doi: 10.1093/cid/ciq158
- [5] Havens PL, Mulligan K, Hazra R, et al. serum 25-hydroxyvitamin D response to vitamin D3 supplementation 50,000 IU monthly in youth with HIV-1 infection. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 4004–4013. Doi: 10.1210/jc.2012-2600
- [6] Gill US, [Zissimopoulos A](#), [Al-Shamma S](#), et al. assessment of Bone Mineral Density in Tenofovir-Treated Patients With Chronic Hepatitis B: Can the Fracture Risk Assessment Tool

Identify Those at Greatest Risk? *Journal of Infectious Diseases* 2015; 211: 374-382

<<http://jid.oxfordjournals.org/content/early/2014/10/03/infdis.jiu471.long>>

[7] Woodward CLN, Hall AM, Williams IG, et al. tenofovir-associated renal and bone toxicity. *British HIV Association. HIV Medicine* 2009; 10: 482–487. Doi: 10.1111/j.1468-1293.2009.00716.x

[8] Grigsby IF, Pham L, Mansky LM, et al. tenofovir treatment of primary osteoblasts alters gene expression profiles: implications for bone mineral density loss. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 394: 48–53. Doi: 10.1037/a0030561.Striving

[9] Shahar E, Segal E, Rosen G, et al. vitamin D status in young HIV infected women of various ethnic origins: Incidence of vitamin D deficiency and possible impact on bone density. *Clinical Nutrition* 2013; 32: 83-87. Doi: 10.1016/j.clnu.2012.05.022

[10] Canuto JMP, Canuto VMP, Lima MHA, et al. fatores de risco associados à hipovitaminose D em indivíduos adultos infectados pelo HIV/aids. *Arch Endocrinol Metab* 2015; 59: 34-41. Doi: 10.1590/2359-3997000000007

[11] Chapuy MC, [Preziosi P](#), [Maamer M](#), et al. prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int* 1997; 7: 439-437. Doi: 10.1007/s001980050030

[12] WHO - World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: WHO. Report of a WHO Consultation on Obesity, 1998. (Accessed May 2, 14 at http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/)

[13] Institute Of Medicine - IOM. DRI's. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids, 2005. (Accessed May 20,13 at http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10490#orgs)

[14] ISCD - The International Society for Clinical Densitometry. Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry, 2005. (Accessed May 13, 15 at <http://www.iscd.org>)

[15] Holick, M.F. et al. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab, 2011; 9: 1911–1930. Doi: <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2011-0385>

[16] Cockcroft DW, Gault MH. prediction of creatinine clearance from serum creatinine. Nephron 1976; 16: 31-41. Doi: 10.1159/000180580

[17]Young DS. implementation of SI Units for Clinical Laboratory Data. Annals of Internal Medicine 1987; 106:114-129.

[18] Brasil. Ministério Da Saúde – Contagem de células T CD4+ e testes de carga viral: principais marcadores laboratoriais para indicação e monitorização ao tratamento anti-retroviral. Unidade de Assistência e Unidade de Laboratório da Coordenação Nacional de DST/Aids (Assecced April 04, 14 at http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/16contagem_celulasTCDA.pdf.)

- [19] R Development Core Team (2009). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. (Accessed Sept 16, 15 at <http://www.R-project.org>)
- [20] SAS Institute Inc. 2008. SAS/STAT® 9.2 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- [21] SPSS 17.0 for windows [computer program]. Statistical Package for Social Science (SPSS). Release Version 17.0.1. Chicago (IL): SPSS Incorporation; 2008.
- [22] Childs K, Fishman S, Constable C, et al. short communication: inadequate vitamin D exacerbates parathyroid hormone elevations in tenofovir users. *Aids Res Hum Retroviruses* 2010; 26: 855–859. Doi: 10.1089/aid.2009.0308
- [23] Von Borstel Smith M, Crofoot K, Rodriguez-Proteau R, Filtz TM. effects of phenytoin and carbamazepine on calcium transport in Caco-2 cells. *Toxicol in vitro* 2007; 21: 855-862. Doi: 10.1016/j.tiv.2007.02.008
- [24] Jackuliak P, Payer J. osteoporosis, fractures, and diabetes. *Inter Journ of Endocrin* 2014; 10: ID 820615 (Accessed Sept 19,15 at <http://dx.doi.org/10.1155/2014/820615>)
- [25] Crutchley RD, Gathe J, Mayberry C, et al. risk Factors for Vitamin D Deficiency in HIV-Infected Patients in the South Central United States. *Aids Research and Human Retroviruses* 2012; 28: 454-459. Doi: 10.1089/aid.2011.0025

[26] Theodorou M, Sersté T, Van Gossum M, et al. factors associated with vitamin D deficiency in a population of 2044 HIV-infected patients. *Clinical Nutrition* 2014; 33: 274-279. Doi: 10.1016/j.clnu.2013.04.018

[27] Leite LHM, Sampaio ABMM. dietary calcium, dairy food intake and metabolic abnormalities in HIV-infected individuals. [J Hum Nutr Diet](#) 2010; 23: 535–543. Doi: 10.1111/j.1365-277X.2010.01068.x

[28] Christakos S, Dhawan P, Porta A, et al. vitamin D and intestinal calcium absorption. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 347: 25-29. Doi: 10.1016/j.mce.2011.05.038. Vitamin

[29] Shay C, Martinez E, Reiss P, et al. Continuous antirretroviral therapy decreases bone mineral density. *Aids* 2010; 23: 1519-1529. Doi:10.1097/QAD.0b013e32832c1792.Continuous

[30] Institute Of Medicine - IOM DRI'S. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. 2011. (Assecced Sep 16,15 at http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=13050)

Tabela 1 Características gerais dos pacientes de acordo com o grupo de estudo.

Variáveis	GTDF + N= 48	GTDF - N= 49	GC N= 30
Masculino n (%)	37 (77)	41 (84)	6 (20)
Feminino n (%)	11(23)	8 (16)	24 (80)
Idade (anos)	42 ± 9,5 ^a	44 ± 9,1 ^a	33 ± 9,1 ^b
Peso (Kg)	68,0 ± 11,8	67,6 ± 11,9	67,6 ± 13,7
IMC (Kg/m²)	23,7 ± 3,5	23,7 ± 3,6	24,5 ± 3,4
Negros n (%)	13 (27)	8 (16)	-
Não-Negros n (%)	35 (73)	41 (84)	30 (100)
Diabetes n (%)	7 (15) ^a	1 (2) ^b	-
Hipertensão n (%)	7 (16)	8 (15)	-
Dislipidemia n (%)	19 (40)	20 (41)	-
Etilismo n (%)	20 (42)	24 (49)	20 (67)
Tabagismo n (%)	10 (21)	17 (35) ^a	4 (13) ^b
Massa Gorda (Kg) Homens	17,0 ± 7,9 ^a	16,4 ± 5,0 ^a	24,0 ± 2,0 ^b
Massa Gorda (Kg) Mulheres	25,6 ± 9,9	24,0 ± 10,0	23,1 ± 7,8
Massa Magra (kg) Homens	51,2 ± 7,2	50,2 ± 8,5	56,6 ± 8,9
Massa Magra (kg) Mulheres	35,7 ± 8,8	37,9 ± 7,7	39,8 ± 5,4
Duração infecção pelo HIV (meses)	119 ± 97	110 ± 73	-
Tempo de uso TARV (meses)	93 ± 82	94 ± 70	-
Tempo de uso TDF (meses)	39 ± 32	-	-
T CD4+ (cels/mm³)	475 ± 263	579 ± 360	-
Carga Viral Indetectável n (%)	38 (79)	45 (92)	-
TFG (mL/min/) Homens	80,5 ± 30,4	79,8 ± 30,5	83,0 ± 14,5
TFG (mL/min) Mulheres	66,0 ± 17,9	55,7 ± 16,9	64,7 ± 19,0

Nota: Teste de Kruskal Wallis; Pós teste de Dunn; Qui-quadrado para variáveis categóricas. Os valores são expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes p<0,05. GTDF+ = grupo com tenofovir; GTDF- = grupo sem tenofovir; GC = grupo controle; IMC= índice de massa corpórea; CV = carga viral; TARV= terapia antirretroviral; TFG = taxa de filtração glomerular estimada pela fórmula de Cockcroft-Gault (CG).

Tabela 2 Concentrações bioquímicas séricas de acordo com os grupos de estudo

Variáveis	GTDF+ (n=48)	GTDF- (n=49)	GC (n= 30)	Valores de Referência
25(OH)D (ng/mL)	26,5 ± 9,6	28,7 ± 9,2	25,6 ± 9,2	>30
PTH (pg/mL)	22,1 ± 25,2	13,0 ± 12,8 ^a	23,4 ± 17,6 ^b	10 a 65
Albumina (mg/dL)	3,9 ± 0,5 ^a	4,0 ± 0,6 ^a	3,6 ± 0,3 ^b	>3,5
Ureia (mg/dL)	32,3 ± 10,4	33,4 ± 10,5	32,5 ± 7,6	10 a 40
Creatinina (mg/dL) Homens	1,3 ± 0,4	1,2 ± 0,4	1,4 ± 0,0	0,7 a 1,3
Creatinina (mg/dL) Mulheres	1,1 ± 0,3	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,3	0,6 – 1,1
Cálcio Total (mg/dL)	9,58 ± 0,64	9,51 ± 0,94	9,80 ± 0,56	8,8 a 10,3
Fósforo (mg/dL)	4,06 ± 1,11	4,05 ± 0,77	4,23 ± 0,70	2,5 a 5,0
Magnésio (mg/dL)	1,84 ± 0,32	1,82 ± 0,22	1,89 ± 0,24	1,8 a 3,0
LH (mUI/L) Homens	6,2 ± 3,7 ^a	6,3 ± 6,5 ^a	2,3 ± 0,8 ^b	0,8 – 7,6
LH (mUI/L) Mulheres	17,0 ± 15,0	10,6 ± 11,8	10,6 ± 22,6	1,1 – 77
FSH (mUI/L) Homens	3,9 ± 3,4	4,8 ± 7,8	2,7 ± 1,4	0,7 – 11,1
FSH (mUI/L) Mulheres	29,2 ± 52,3	2,8 ± 4,0	6,7 ± 8,6	1,2 – 21
Testosterona (ng/dL) Homens	570 ± 279	504 ± 268	352 ± 78	272 – 853
Estradiol (pg/mL) Mulheres	65 ± 66	53 ± 53	102 ± 141	ND – 400

Nota: Teste de Kruskal Wallis; Pós teste de Dunn. Os valores são expressos em média ± desvio padrão. ^{a,b}Letras diferentes p<0,05; GTDF+ = grupo com tenofovir; GTDF- = grupo sem tenofovir; GC = grupo controle; 25(OH)D = 25 hidroxivitamina D; PTH = paratormônio; LH= luteinizing hormone; FSH = Follicle-stimulating hormone; ND = não detectável.

Tabela 3 Valores de consumo alimentar e recomendações de energia, macronutrientes e micronutrientes de acordo com os grupos de estudo.

Variáveis	Feminino			Masculino		
	GTDF+ (n=11)	GTDF- (n=8)	GC = (n=24)	GTDF+ (n=37)	GTDF- (n=41)	GC = (n= 06)
Energia (kcal)	1316 ± 317	1477 ± 315	1508 ± 319	1901 ± 539	1924 ± 855	2071 ± 476
Recomendação	1791 ± 132	1799 ± 241	1923 ± 166	2304 ± 204 ^a	2269 ± 249 ^a	2568 ± 228 ^b
Carboidratos (g)	183 ± 43	204 ± 45	195 ± 44	267 ± 78	263 ± 128	266 ± 25
Recomendação	224	225	240	288	284	321
Proteína (g)	53 ± 16	62 ± 17	67 ± 19	102 ± 58	99 ± 52	101 ± 32
Recomendação	101	101	108	130	128	144
Lípidios (g)	41 ± 15	46 ± 16	49 ± 14	50 ± 19	55 ± 27	66 ± 41
Recomendação	55	55	59	70	69	78
Cálcio (mg)	343 ± 173 ^a	498 ± 288	682 ± 288 ^b	601 ± 279	677 ± 502	583 ± 189
Recomendação	800	800	800	800	800	800
Vitamina D (mcg)	1,7 ± 1,3	2,5 ± 2,2	2,3 ± 1,7	2,5 ± 1,9	2,1 ± 1,7	1,5 ± 1,1
Recomendação	10	10	10	10	10	10
Magnésio (mg)	118 ± 45 ^a	267 ± 210	197 ± 98 ^b	213 ± 90	217 ± 145	265 ± 69
Recomendação	320	320	320	420	420	420
Fósforo (mg)	615 ± 162	707 ± 265	856 ± 274	1071 ± 367	1073 ± 591	1206 ± 353
Recomendação	700	700	700	700	700	700

Nota: Mann-Whitney. Os valores são expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes p<0,05 GTDF+ = grupo com tenofovir; GTDF- = grupo sem tenofovir; GC = grupo controle; EAR= necessidade média estimada; RDA = Ingestão Dietética Recomendada.

Tabela 4 Classificação da densidade mineral óssea dos sítios ósseos: coluna lombar, quadril total e corpo total, segundo os critérios da *International Society for Clinical Densitometry* – ISCD de acordo com os grupos de estudo.

Sítio Ósseo	Grupos		
	GTDF+ n=48	GTDF- n=49	GC n=30
Lombar			
DMO (g/cm ²)	0,94 ± 0,12 ^a	0,94 ± 0,12 ^a	1,03 ± 0,11 ^b
Z-score	-1,13 ± 1,05 ^a	-1,02 ± 1,12 ^a	-0,15 ± 0,99 ^b
Normal [n (%)]	34 (71)	38 (77)	30 (100)
Osteopenia [n (%)]	12 (25)	6 (12)	-
Osteoporose [n (%)]	2 (4)	5 (10)	-
Quadril			
DMO (g/cm ²)	0,89 ± 0,14	0,92 ± 0,11	0,94 ± 0,10
Z-score	-0,63 ± 1,02 ^a	-0,41 ± 0,78	-0,05 ± 0,70 ^b
Normal [n (%)]	38 (79)	41 (84)	30 (100)
Osteopenia [n (%)]	8 (17)	7 (14)	-
Osteoporose [n (%)]	2 (4)	1 (2)	-
Corpo Total			
DMO (g/cm ²)	1,16 ± 0,10	1,16 ± 0,11	1,19 ± 0,09
Z-score	0,23 ± 0,76 ^a	0,22 ± 0,78 ^a	0,84 ± 0,87 ^b
Normal [n (%)]	41 (85)	42 (86)	30 (100)
Osteopenia [n (%)]	7 (15)	6 (12)	-
Osteoporose [n (%)]	-	1 (2)	-

Nota: Teste de Kruskal Wallis. Qui-quadrado para variáveis categóricas. GTDF+ = grupo com tenofovir; GTDF- = grupo sem tenofovir; GC = grupo controle. Z-score para homens e mulheres < 50 anos; DMO = densidade mineral óssea; ^{a,b} Letras diferentes p<0,05.

Tabela 5: Correlação de Pearson, entre as variáveis quantitativas e a concentração sérica de vitamina D em pacientes soropositivos para HIV.

Variáveis	25(OH)D	
	Todos HIV +	p*
Duração infecção pelo HIV (meses)	-0,128	0,211
Tempo de uso TARV (meses)	-0,158	0,122
Massa Gorda (kg)	-0,266	0,008
Massa Magra (kg)	0,041	0,688
TCD4+	-0,015	0,886
PTH pg/mL	-0,084	0,413
FSH mUI/L	-0,260	0,010
LH mUI/L	-0,243	0,016

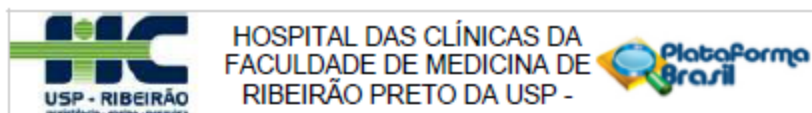
Nota: Valores significativos = p< 0,05. TARV = terapia antirretroviral; PTH: paratormônio; FSH: hormônio folículo estimulante. LH: hormônio luteinizante.

Tabela 6 Modelos de Regressão Linear para vitamina D (modelo I), DMO lombar (modelos II), DMO quadril total (modelo III) e DMO corpo total (modelo IV) em paciente soropositivos para HIV.

Modelos	Variáveis	Coeficientes	p-value	95% IC		R ²
				Limite Inferior	Limite Superior	
I	Sexo	-0,440	0,873	-5,875	4,995	0,12
	Massa Gorda (kg)	-0,250	0,054	-0,505	0,004	
	Tempo de uso TARV (meses)	-0,015	0,259	-0,040	0,011	
	FSH (mUI/L)	-0,095	0,125	-0,216	0,027	
	LH (mUI/L)	-0,049	0,746	-0,348	0,250	
II	Massa Magra (kg)	0,004	0,003	0,001	0,006	0,24
	FSH (mUI/L)	-0,001	0,103	-0,003	0,000	
	LH (mUI/L)	0,000	0,697	-0,004	0,003	
	Cálcio total (mg/dL)	-0,017	0,241	-0,046	0,012	
	Magnésio (mg/dL)	-0,064	0,127	-0,147	0,019	
	Vitamina D (Dieta)	0,006	0,318	-0,006	0,019	
III	Massa Magra (kg)	0,005	0,001	0,002	0,007	0,16
	PTH (pg/mL)	0,000	0,558	-0,002	0,001	
	FSH (mUI/L)	0,000	0,848	-0,002	0,002	
	LH (mUI/L)	-0,002	0,325	-0,006	0,002	
IV	Massa Magra (kg)	0,004	0,000	0,002	0,007	0,19
	FSH (mUI/L)	0,000	0,528	-0,002	0,001	
	LH (mUI/L)	0,000	0,718	-0,003	0,002	

Nota: Modelo de regressão linear ajustado de acordo com as concentrações séricas de vitamina D. Significância estatística $p < 0,10$. IC = intervalo de confiança; TARV = terapia antirretroviral; DMO= densidade mineral óssea. PTH= paratormônio; FSH= hormônio folículo estimulante; LH= hormônio luteinizante.

ANEXO A: Protocolo CEP/HCFMRP-USP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: "Prevalência de deficiência de Vitamina D em pacientes soropositivo para HIV"

Pesquisador: JESSIKA CARVALHO MARIA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 27332114.8.0000.5440

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 627.856

Data da Relatoria: 16/04/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de pesquisa de mestrado do DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA da FMRP-USP da aluna Jéssika Carvalho Maria (Pesquisadora) e do Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro (Orientador).

Objetivo da Pesquisa:

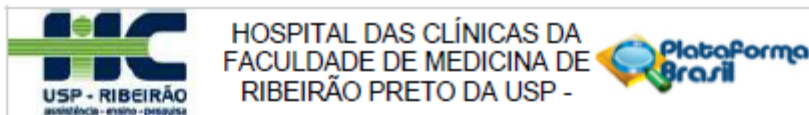
Avaliar a prevalência de deficiência de vitamina D em pacientes infectados pelo HIV com e sem lipodistrofia, em uso da TARVc.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com as evidências na literatura, na infecção pelo HIV, sinais físicos de lipodistrofia e o uso de antirretrovirais, podem contribuir para a inflamação sistêmica levando ao surgimento de alterações metabólicas, entre elas, maior prevalência de doença óssea. Os fatores de risco identificados para deficiência de vitamina D em adultos HIV infectados é similar aqueles relatados pela população em geral, além disso, a baixa contagem de células CD4 e o uso de antirretrovirais são fatores que aumentam a possibilidade de deficiência de vitamina D.

Observamos que, embora estas alterações metabólicas sejam associadas com a presença de lipodistrofia, não há estudos que avaliam a prevalência de deficiência de vitamina D associando com a presença ou não de lipodistrofia em nossos pacientes. Os resultados poderão nos indicar a necessidade de melhoras na conduta dietoterápica e no esquema de suplementação para uma

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 627.866

melhor qualidade de vida destes indivíduos, prevenindo o surgimento de novas complicações.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo será do tipo observacional, transversal com adultos, de ambos os sexos, com diagnóstico de soropositivos para HIV, com diferentes cargas virais e em tratamento com TARVc, com e sem lipodistrofia. A coleta de dados e recrutamento dos participantes será realizada na Unidade Especial de Tratamento para Doenças Infecciosas (UETDI) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP). Se houver necessidade, serão coletados dados para completar a amostra no Centro de Saúde Escola Culabá, Ribeirão Preto - São Paulo (SP). Serão coletados dados em relação à duração da infecção pelo HIV, tempo de uso da TARVc, contagem das células T CD4+ e a quantificação da carga viral através da revisão dos prontuários do HCFMRP-USP. Serão necessários dois encontros com os participantes, sendo que no primeiro encontro, haverá inicialmente, a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, a realização das medidas antropométricas, entrega e explicação do Registro Alimentar de três dias e orientações para realização dos exames. No segundo encontro, será realizada a coleta de amostra de sangue, o DXA e o recolhimento do registro alimentar.

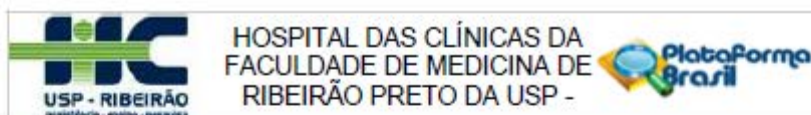
Critério de Inclusão: - Ambos os sexos; - Idade entre 18 e 60 anos; - IMC 18,5Kg/m² a 29,9 Kg/m² - Pacientes soropositivos para HIV em uso da terapia antirretroviral; - Pacientes com sinais físicos de lipodistrofia. **Critério de Exclusão:** - Hospitalizados; - Uso de suplementos de cálcio e vitamina D; - Uso de medicamentos para tratamento de osteoporose; - Participantes com história de tireoidectomia prévia; - Presença de insuficiência renal e/ou hepática.

Os participantes (n= 236) serão agrupados conforme o grau de deficiência de vitamina D e presença ou não de lipodistrofia. No que diz respeito ao grau de deficiência de vitamina D serão classificados em < 20 ng/ml é Insuficiente, 21 a 29 ng/dl é Insuficiência relativa, > 30ng/dl é Níveis suficientes (HOLICK, 2007). Em relação à lipodistrofia serão organizados em dois grupos em uso de TARVc: Grupo com lipodistrofia (GLIPO+) e Grupo sem lipodistrofia (GLIPO-) (SUTINEN E YKI-JARVINEN, 2007). Serão realizadas as seguintes avaliações: bioquímica, antropometria, lipodistrofia (DXA), socioeconômica e dietética.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os documentos foram apresentados em novas versões e estão apropriados.

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 527/856

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O CEP considera o Projeto de Pesquisa (2ª VERSÃO de 10 de abril de 2014) e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (2ª VERSÃO de 10 de abril de 2014) aprovados.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

RIBEIRÃO PRETO, 28 de Abril de 2014

Assinador por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
 (Coordenador)

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
 Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900
 UF: SP Município: RIBEIRÃO PRETO
 Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br

ANEXO B: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

**FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**COMITÉ DE ÉTICA EM PESQUISA****“PREVALÊNCIA DE DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D EM PACIENTES SOROPOSITIVOS PARA HIV”****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Prezado Senhor (a),

O senhor (a) está sendo convidado para participar de uma pesquisa intitulada “Prevalência de deficiência de vitamina D em pacientes soropositivos para HIV”. O objetivo é verificar se a alimentação ou o tratamento medicamentoso com o antirretroviral está influenciando para a falta de vitamina D e albumina em seu sangue.

Informo que a sua participação é voluntária e não obrigatória e o senhor (a) fará parte do grupo constituído somente por pessoas que são portadoras do HIV-1. Para isto, o senhor (a) será questionado sobre a sua alimentação de rotina e serão realizadas medidas de peso e altura. Será realizado o exame de raio-x no aparelho de densitometria óssea para avaliar o osso do seu corpo inteiro, pois a falta de vitamina D no sangue prejudica a saúde do osso. Para realizar este exame, será necessário que o senhor (a) retire todos os objetos de metal que estiverem em contato com o corpo (exemplo: anel, relógio, brincos). Para a coleta de sangue (vitamina D e albumina) será necessário que o senhor (a) faça um jejum de 12 horas e iremos coletar duas amostras de 5 ml de sangue cada, o que corresponde a uma quantia de 01 colher de sopa.

Estes exames serão realizados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; afirmo que o único desconforto que o senhor poderá sentir será a dor pela picada da agulha e podem ocorrer hematomas devido ao processo da coleta de sangue no momento do exame. Além disso, será necessário obter informações de seus dados pessoais (questionados pelo pesquisador responsável), exames bioquímicos (contagem de células T CD4+ e quantificação de carga viral) além do tempo de uso do antirretroviral através de seu prontuário médico. Estas informações serão mantidas em segredo pela equipe responsável da pesquisa e não serão mencionados seus dados pessoais (nome completo, endereço, telefone, registro HC, data de nascimento, número de filhos e número de pessoas na família) nas divulgações em publicações científicas; você será identificado apenas com um número.

Como benefício, a sua participação será essencial para elucidarmos se a alimentação ou o tratamento medicamentoso com o antirretroviral está influenciando na falta da vitamina D e

albumina em seu sangue. O senhor (a) pode deixar de participar da pesquisa quando quiser, sem nenhum problema ou prejuízo.

Destacamos que não haverá pagamentos financeiros referentes a sua participação como voluntário (a) e a sua vinda ao Hospital das Clínicas será agendada com os retornos já previstos do seu atendimento médico, assim não aumentará seus gastos com transporte. O tempo que o senhor gastará para participar das coletas será de aproximadamente duas horas, podendo ser antes ou após o seu atendimento médico. Durante este período da pesquisa será fornecida pela pesquisadora uma alimentação para o senhor.

Reforço que este protocolo de pesquisa não irá interferir nos seus procedimentos clínicos, cirúrgicos e terapêuticos enquanto estiver em acompanhamento aqui no Hospital das Clínicas em Ribeirão Preto.

O senhor (a) terá direito a uma via do termo de consentimento devidamente assinado, podendo entrar em contato com o pesquisador responsável caso haja alguma dúvida relacionada à sua participação na pesquisa a qualquer momento. Em dúvidas dos aspectos éticos do estudo pode entrar em contato com o Comitê de Ética em pesquisa do HCFMRP-USP de segunda à sexta-feira das 8:00hs às 17:00h.

Eu, _____, número do registro _____, fui convidado (a) e aceito livremente a participar do estudo intitulado “Prevalência de deficiência de Vitamina D em pacientes soropositivo para HIV” sob a responsabilidade dos pesquisadores Jéssika Carvalho Maria, nutricionista, mestranda do programa de Alimentos e Nutrição da FCFAR – UNESP, e prof. Dr. Anderson Marliere Navarro, docente do departamento de Clínica Médica da FMRP – USP.

Ribeirão Preto, _____ de _____ de _____.

Pesquisadores Responsáveis

Jéssika Carvalho Maria
Pesquisador Responsável
Tel: (17) 99137-8528
Data: ____/____/____

Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro
Docente Responsável
Tel: (16) 3602-2466
Data: ____/____/____

Participante:

Assinatura
Nome:
Data: ____/____/____

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa
Telefone: (16) 3602-2228
Ribeirão Preto – São Paulo