

EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO COM COLECALCIFEROL (VITAMINA D3) EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À TERAPIA ANTIRRETROVIRAL DE ALTA POTÊNCIA (HAART).

Maria Claudia Maruchi Peres (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Aurea Regina Telles Pupulin (Orientador), e-mail: ra107324@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / CCS-DBS - Departamento de Ciências Básicas da Saúde, PR

Área: Ciências da Saúde – **Subárea:** Farmácia

Palavras-chave: Vitamina D, HIV/AIDS, terapia antirretroviral

Resumo:

O surgimento da terapia antirretroviral combinada (HAART) foi extremamente importante no tratamento da AIDS, trazendo benefícios e aumento de sobrevida em pacientes HIV-positivos. Simultaneamente, surgiram diversos efeitos colaterais, como dano hepático, alterações em rins e sintomas gastrintestinais. Sabe-se que a vitamina D, um esteroide lipossolúvel, age em diversos órgãos e sistemas, sendo ativada pela sequência: pele, fígado e rins. Como tentativa de minimizar os efeitos adversos provocados pelo tratamento com medicamentos antirretrovirais, este trabalho objetivou avaliar a suplementação com vitamina D3 (1000UI/dia) em camundongos em uso de terapia HAART (composta por: Lopinavir/Ritonavir, Lamivudina/Zidovudina e Tenofovir), sob parâmetros clínicos e laboratoriais, analisando seu efeito em enzimas hepáticas, no rim, no perfil lipídico e no peso destes animais. Foram utilizados 32 animais como objeto de estudo, sendo estes divididos em três grupos experimentais: grupo 1, tratado com HAART; grupo 2, tratado com HAART e vitamina D e grupo 3, tratado apenas com água. Foi realizado um pré-tratamento com vitamina D para o grupo 2 por 7 dias. Em seguida, foram realizadas gavagens de acordo com os tratamentos direcionados a cada grupo por mais 15 dias. Ao final do experimento, foi possível observar que a suplementação de vitamina D ao uso de HAART no grupo 2 obteve melhores resultados, apresentando redução nos níveis de colesterol e promovendo nefroproteção pela queda da creatinina, quando se compara aos resultados obtidos pelo grupo 1. Portanto, deve-se cogitar o uso de vitamina D suplementar à HAART, visto que ela pode interferir positivamente em efeitos colaterais comumente presentes.

Introdução

Com o advento da *Highly Active Antiretroviral Therapy* (HAART), notou-se diversas mudanças e benefícios no tratamento da AIDS, com aumento da sobrevida dos pacientes e melhora na qualidade de vida. Porém, concomitantemente, surgiram diversos efeitos colaterais. Entre eles, destacam-se danos hepáticos, perda de peso, alterações renais, gastrintestinais, imunológicas, entre outras [1].

A vitamina D é um esteroide lipossolúvel essencial para vida em animais, produzida na pele por ação direta da luz solar. Sua via de conversão para forma ativa segue a sequência pele, fígado e rim, portanto, ela atua e interfere em diversos órgãos e sistemas. Estudos mostram que a vitamina D, por uma série de reações em cadeia, tem a capacidade de reduzir a síntese de colesterol, além de ser capaz de atuar em genes lipogênicos, controlando síntese de lipídeos e triglicérides em adipócitos [2]. Além disso, foi apontado por alguns estudos, que bons níveis séricos de vitamina D possuem uma relação direta com a melhora da função hepática, de acordo com a escala de *Child-Pugh* (a qual avalia severidade e prognóstico de doenças hepáticas crônicas) [3].

Em contrapartida, é possível observar na literatura que, pacientes com deficiência de vitamina D em uso de terapia antirretroviral de alta potência (TARV), sendo o caso em questão acerca do Tenofovir, apresentam lesões renais mais intensas, cujos parâmetros são melhorados ao repor este esteroide [4].

Outro ponto importante ligado à vitamina D, é que ela favorece a saciedade e o gasto energético, explicado por meio de diversos mecanismos biológicos e metabólicos, principalmente pela secreção de hormônios intestinais [5].

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação com a vitamina D3 em camundongos da raça *Swiss*, submetidos ao uso da HAART, sobre parâmetros clínicos e laboratoriais. A terapia escolhida envolveu três medicamentos: Lopinavir/Ritonavir, Lamivudina/Zidovudina e Tenofovir.

Materiais e Métodos

Para realizar este experimento foram utilizados os medicamentos Lamivudina (150 mg)/Zidovudina (300 mg), Tenofovir (300 mg) e Lopinavir (200mg)/Ritonavir (50mg) da terapia antirretroviral (TARV), Vitamina D (1000UI/dia), cepilho, ração (Nuvilab® CR1), gaiolas de acrílico e materiais para coleta e análise de amostras sanguíneas. Além disso, com autorização do Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação da Universidade Estadual de Maringá, foram selecionados 32 camundongos da raça *Swiss*, os quais foram separados em três grupos experimentais para realizações de gavagens da seguinte forma:

- Grupo 1: 10 animais, tratados nos primeiros 7 dias com 0,2ml de água, e nos outros 15 dias com 0,2ml de água + 0,2ml de HAART.
- Grupo 2: 12 animais tratados nos primeiros 7 dias com 0,2ml de vitamina D, e nos outros 15 dias com 0,2ml de vitamina D + 0,2ml de HAART.
- Grupo 3 (controle): 10 animais tratados nos primeiros 7 dias com 0,2ml de água, e nos outros 15 dias com mais duas gavagens de 0,2 ml de água cada.

A terapia antirretroviral foi pesada e diluída em água previamente às gavagens, para que a dose fosse administrada proporcionalmente ao peso médio de um camundongo da raça *Swiss*, quando a comparamos à dose dos medicamentos utilizada por humanos. O experimento durou 22 dias, sendo dividido em 2 partes (primeira parte composta por 7 dias e segunda parte composta pelos outros 15 dias), cada uma com um tipo de gavagem realizada de acordo com cada grupo, como mencionado anteriormente. A cada 2 dias realizava-se limpeza de gaiola, troca de cama de cepilho e reposição de alimentos e água. Os camundongos foram pesados

antes e após o experimento para análise, sendo que, ao final dos 22 dias, foi realizada a coleta de sangue e a eutanásia dos animais, que seguiu as normas preconizadas pela Lei Nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Com a coleta do sangue, realizou-se uma análise sorológica dos parâmetros: AST, ALT, GGT, triglicérides, creatinina e colesterol.

Resultados e Discussão

Em relação ao peso dos camundongos, observa-se que o grupo 2 obteve menor diferença no ganho de peso ao final do experimento, pela provável associação de mecanismos metabólicos desencadeados pela vitamina que interferem na saciedade [5]. Na análise por meio de *t test*, observou-se relevância estatística para o resultado do colesterol e para a creatinina ($p=0,013$ e $p=0,008$, respectivamente), notando-se que a média do valor de creatinina no grupo 1 atingiu 2,85mg/dL, enquanto que no grupo 2, este valor foi de apenas 0,14. Tal fato pode ser explicado pelo fato do metabolismo íntimo que a vitamina D possui com os rins, sendo que a deficiência dessa vitamina associada ao uso de Tenofovir pode agravar a nefrotoxicidade e desencadear nefropatias [4]. Já em relação ao colesterol, o grupo 1 obteve um valor mais elevado que os outros grupos, podendo-se inferir que a vitamina D pode atuar reduzindo níveis séricos de colesterol [2]. Tais fatos podem ser observados na tabela 1:

Tabela 1 – Resultado da diferença de peso antes e depois do experimento, média do colesterol e da creatinina de cada grupo

Grupo	Ganho de peso	Colesterol (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)
1	11,3g	263,7mg/dL	2,85mg/dL
2	9,85g	223,4mg/dL	0,14mg/dL
3	10,98	224mg/dL	0,19mg/dL

Tabela 2 – Resultado da análise bioquímica dos parâmetros ALT (mg/dL), AST (mg/dL), GGT (mg/dL) e triglicérides (mg/dL), representando a média de cada grupo.

Grupo	ALT	AST	GGT	Triglicérides
1	76,8 mg/dL	216 mg/dL	7,65 mg/dL	162,5 mg/dL
2	66,3 mg/dL	188 mg/dL	7,65 mg/dL	161 mg/dL
3	34,9 mg/dL	96 mg/dL	5,1 mg/dL	147,4 mg/dL

A análise bioquímica dos resultados foi realizada em *pool* (mistura de duas amostras de sangues de camundongos diferentes do mesmo grupo experimental), por conta da quantidade limitada de plasma desta raça, impossibilitando a análise individual.

Quanto aos demais parâmetros bioquímicos, representados na Tabela 2, não foi encontrada relevância estatística no *test t*, mas é possível observar elevação de enzimas AST, ALT e GGT tanto no grupo 1, quanto no grupo 2, em relação ao controle, provavelmente devido a um tempo prolongado de exposição a medicamentos de alta potência, que conseqüentemente pode acarretar em lesões hepáticas e de vias biliares ao exceder a capacidade de metabolização hepática, podendo lesionar fígado e vias biliares. Em relação aos triglicérides, não se observou diferença significativa entre os grupos experimentais, apenas é possível notar que o grupo controle apresentou um menor valor médio. Para melhor avaliar estes parâmetros, surge a possibilidade de realização de estudos futuros com novos grupos experimentais.

Conclusões

É possível concluir, pelos resultados do presente trabalho realizado em modelo animal, que a vitamina D (colecalférol), possui um potencial de proteção renal, uma vez que os níveis de creatinina nos camundongos do grupo 2, suplementados com a vitamina, mantiveram-se dentro da estimativa de normalidade e melhores que o grupo 1, mesmo sob uso da HAART, sendo possível evidenciar isso de forma estatística, pelo p valor. A mesma situação também foi observada no perfil lipídico, tendo o grupo 2 apresentado melhores resultados de colesterol que o grupo 1, podendo evidenciar um papel importante da vitamina D na melhora do perfil lipídico. Portanto, deve-se levar em consideração a probabilidade dessa suplementação em pacientes soropositivos para HIV, em uso de HAART.

Agradecimentos

Agradeço ao PIBIC (CNPq/FA/UEM), pela concessão da bolsa e incentivo à pesquisa. À minha coordenadora Aurea Pupulin, à Sandra Vieira pelo auxílio em laboratório, e às minhas colegas de laboratório Loara Fontinhas, Victoria Sabino e Yara Silva.

Referências

- [1] CONCATO, C.; COTUGNO, N.; MANNO, E. C.; MORROCCHI, E.; PALMA, P.; ROCCA, S.; RUGGIERO, A.; SESSA, L.; ZANGARI, P.; ZICARI, S. Immune Activation, Inflammation, and Non-AIDS Co-Morbidities in HIV-Infected Patients under Long-Term ART. **Viruses**. 11(3):200, Fev 27, 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6466530/>>. Acesso em: 12/08/2022.
- [2] DIBABA, D.T. Effect of vitamin D supplementation on serum lipid profiles: a systematic review and meta-analysis. **Nutr Rev.**, 1;77(12):890-902, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/nutrit/nuz037>>. Acesso em: 12/08/2022.
- [3] FERNANDEZ, N. F.; GONI, J. L. O.; JORQUERA, F.; MATIAS, D. J.; TORRES, P. L. Vitamin D deficiency in chronic liver disease, clinical-epidemiological analysis and report after vitamin d supplementation. **Gastroenterol Hepatol**. 39:305-10, 2016. Disponível em: <<https://www.elsevier.es/en-revista-gastroenterologia-hepatologia-english-edition--382-pdf-S2444382416300141>>. Acesso em: 22/08/2022
- [4] CANALE, D. Mecanismos de lesão renal em ratos com deficiência de vitamina D submetidos ao tratamento com Tenofovir. **Tese (Doutorado em Nefrologia) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2014. doi:10.11606/T.5.2014.tde-06062014-100748. Acesso em: 22/08/2022.
- [5] LEÃO, A. L. M.; SANTOS, L. C. Consumo de micronutrientes e excesso de peso: existe relação?. **Revista Brasileira de Epidemiologia [online]**. 2012, v. 15, n. 1, pp. 85-95. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1415-790X2012000100008>>. Acesso em: 25/08/2022.