

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM COLECALCIFEROL (VITAMINA D3) EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À TERAPIA ANTIRETROVIRAL (PRIMEIRA LINHA)

Victória Vignotti Sabino (PIBIC/UEM), Áurea Regina Telles Pupulin (Orientadora),
e-mail: vicvs.98@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR.

Área: Ciências da saúde; sub-área: Farmácia.

Palavras-chave: colecalciferol, antirretrovirais, metabolismo.

Resumo

Estudos com terapias complementares vêm sendo feitos para melhorar a adesão ao tratamento com terapia antirretroviral altamente ativa (HAART). O objetivo deste projeto foi avaliar os efeitos metabólicos da administração da vitamina D3 em camundongos submetidos à terapia com medicamentos de primeira linha. Para isso, os animais (n=31) – não infectados pelo HIV – foram divididos em: grupo 1, tratado com HAART; grupo 2, com HAART e vitamina D3, 500 UI/dia; e grupo 3, controle. Com base na análise descritiva do grupo 2 em relação ao 1 foi observado que todos os parâmetros favoreciam o grupo que recebeu a vitamina e, praticamente todos os resultados demonstraram significância estatística ($p < 0,05$). O que sugeriu uma provável correlação entre a vitamina D3 e a melhora de parâmetros metabólicos prejudicados pelo uso da terapia.

Introdução

A HAART levou a uma redução significativa na morbimortalidade relacionada à Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). O sucesso terapêutico decorre da adesão correta ao tratamento. Porém, os efeitos colaterais metabólicos graves induzidos e as repercussões na qualidade de vida são um obstáculo à adesão (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Por isso, tem-se investido em pesquisas de substâncias que contribuem para a melhoria de alterações orgânicas e metabólicas causadas pelo tratamento, sendo a vitamina D3 uma delas. Há estudos que relacionam, no contexto da infecção pelo HIV, a deficiência de vitamina D, muitas vezes agravada pela introdução da HAART, com a diminuição da contagem das células CD4 (SHIVAKOTI et al., 2019). Dessa forma, pacientes acometidos tornam-se mais propensos a desenvolver infecções e/ou alterações metabólicas devido aos distúrbios imunológicos que levam ao rápido avanço da doença (CUNHA et al., 2009). Estudos também têm pesquisado sobre possíveis benefícios e sugerem uma possível correlação entre a suplementação de D3 com o metabolismo lipídico e função hepática e renal (CANALE, 2014; LORVAND et al., 2017).

Materiais e Métodos

Trata-se de um estudo experimental laboratorial em modelo animal, aprovado na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), protocolo 6662180320, que avaliou o efeito da vitamina D3 em camundongos submetidos, por 15 dias, à HAART composta pela combinação de indicação do Ministério da Saúde brasileiro: Lamivudina/Zidovudina, Tenofovir e Lopinavir/Ritonavir. Foi realizado um ajuste da dose padrão, estabelecida na bula dos fármacos, para o peso dos camundongos. De modo que a posologia diária foi: Lamivudina (150mg/dia)/Zidovudina (300mg/dia): 0,000115g por animal dissolvidos em 0.2ml, de água, Tenofovir (300mg/dia): 0,00023g por animal dissolvidos em 0,2ml e Lopinavir (600mg/dia)/Ritonavir (150mg/dia): 0,00046g por animal dissolvido em 0,2 ml; 1 gota de vitamina D3, laboratório Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda. 14.000 UI (DEPURA), equivalente a 0,035 ml ou 500 UI. Todas as posologias foram previamente calculadas e sistematicamente controladas por pesagem com balança analítica. Os camundongos Swiss (n=31) machos de 35-40 dias foram divididos e receberam, por gavagem, a seguinte composição: grupo 1 (n=10): terapia HAART; grupo 2 (n=10): terapia HAART e vitamina D3; grupo 3 ou controle (n=11): apenas água.

Apesar da diferença das substâncias administradas, os animais foram alocados com água e ração na mesma proporção, foram submetidos aos mesmos cuidados de higiene das caixas e manejados ao mesmo horário do dia.

A avaliação clínica (peso corporal, ingestão de água e ração, excreção e comportamento) foi realizada antes e após o tratamento e dosagens séricas de colesterol, triglicérides, enzimas hepáticas (AST, ALT, GGT) e creatinina foram realizadas utilizando-se métodos específicos. Com exceção do colesterol e triglicérides, as outras dosagens foram realizadas por meio da testagem em *pool*, que precisou ser feita, tendo em vista que a quantidade de sangue coletada de cada camundongo é limitada. Os resultados foram analisados estatisticamente com *GraphPad Prism* utilizando o *Student's t test*.

Resultados e Discussão

Mediante a avaliação clínica, por inspeção visual diária, verificou-se que os animais do grupo 1 e 2 bebiam uma menor quantidade de água e se alimentavam menos que o grupo 3, e o mesmo padrão se repetiu com as excretas. Ainda foi observado que o grupo 1 era o mais agitado. A análise descritiva (Tabela 1) demonstrou que o grupo 2 foi o que apresentou a maior média de ganho de peso, sendo que a suplementação de vitamina D3 aumentou em aproximadamente 30% o ganho quando comparado ao grupo que recebeu apenas HAART, estando próximo do grupo 3 que representa o desenvolvimento de um animal saudável. Apesar de uma diferença importante, o valor-p foi de 0,0627, considerado como sem significância estatística.

A avaliação das dosagens plasmáticas demonstrou que a probabilidade da terapia antirretroviral causar danos ao organismo, principalmente nefro e hepatotoxicidade e alterações no perfil lipídico, está em constata comprovação científica.

Tabela 1 – Resultados descritivos.

Grupos Parâmetros	1 - HAART	2 - HAART + Vitamina D	3- Controle	Valor p
Ganho de peso	8,89 ± 0,99	11,55 ± 1,15	9,03 ± 3,08	0,0627
Colesterol total	144,9 ± 23.79	130,8 ± 15.68	133,9 ± 11.36	0,3437
Triglicérides	261,2 ± 55.54	229 ± 37.47	226 ± 50.96	<0,0001
AST	162 ± 27.41	112 ± 32.74	116 ± 39.00	<0,0001
ALT	43,65 ± 19.94	34,9 ± 19.94	17,46 ± 16.83	<0,0001
GGT	43,65 ± 14.28	20,95 ± 19.46	15,7 ± 6.37	<0,0001
Creatinina	4,56 ± 0.11	0,75 ± 0.57	0,83 ± 0.25	< 0,0001

Nota: O ganho de peso foi calculado utilizando-se a média calculada para cada grupo.

Quanto à nefrotoxicidade, o Tenofovir é o principal responsável. O rim possui um papel importante na formação do metabólito ativo da vitamina D, e essa, por sua vez, exerce efeito protetor e regula atividades fisiológicas renais (CANALE, 2014). No experimento foi observado que a creatinina, utilizada para avaliar a função renal, teve uma redução de 83,5% favorecendo o grupo 2 em relação ao 1 e um p-valor com significância estatística (< 0,05), fatos que sugerem justamente o efeito protetor da vitamina D no órgão, desacelerando a progressão da lesão provocada pela toxicidade do medicamento.

Em relação aos parâmetros lipídicos, associam-se as alterações principalmente ao Lopinavir e Ritonavir (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Foi possível notar que a vitamina D3 contribuiu para médias favoráveis do grupo 2 em comparação ao que recebeu apenas a HAART, demonstrando uma redução de aproximadamente 10% no colesterol total e 12,3% nos triglicérides, porém apenas para o segundo parâmetro foi encontrado um p-valor significativo. Por fim, a toxicidade hepática tem associação direta a Lamivudina e Zidovudina (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). A dosagem das enzimas hepáticas, que avaliam o funcionamento do órgão, também demonstrou um acometimento do fígado maior no grupo que recebeu apenas a terapia antirretroviral. Comparando os grupos 1 e 2, houve uma redução favorecendo o segundo de aproximadamente 31% do AST, 20% do ALT, 52% da GGT, além de um p-valor com significância estatística para os três parâmetros.

Os resultados encontrados na análise da função hepática e perfil lipídico estão em consonância com estudos prévios que demonstraram efeitos positivos da suplementação com vitamina D em ambos os aspectos. Isso porque a vitamina está envolvida na regulação da adipogênese e inibe o fator de transcrição NF-kB envolvido com a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF- α , relacionadas à progressão da lesão hepática. (LORVAND et al., 2016).

Apesar de as médias sugerirem resultados positivos, a amostra conta um com desvio padrão que se mostrou relativamente alto para todos os parâmetros, com exceção da creatinina. Constata-se essa que demonstra uma heterogeneidade da amostra, o que já era esperado, visto que se trata de um experimento em modelo animal.

Conclusões

Os resultados obtidos sugerem uma possível proteção da vitamina D3 frente à nefro e hepatotoxicidade causada pela HAART, visto que, os níveis de creatinina e das enzimas hepáticas se apresentaram significativamente melhores no grupo em que recebeu a vitamina, contrariamente ao que foi visto no grupo tratado apenas com os antirretrovirais. A mesma situação também foi observada pelo perfil lipídico, onde os triglicérides apresentaram níveis melhores ao se comparar o grupo 1 e 2. Dessa forma, a continuidade de estudos sobre o assunto é importante e pode permitir que a suplementação com a vitamina possa ser futuramente utilizada em pacientes soropositivos em uso da HAART.

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar à minha família, que sempre me apoiou e nunca mediu esforços para me ver conquistar os meus sonhos. À professora Áurea, sou muito grata pela orientação e oportunidade dada a mim para aprender sempre mais. Às minhas colegas de laboratório, Isadora, Loara, Maria Cláudia e Yara, deixo meu agradecimento pelo companheirismo e auxílios no decorrer dos experimentos. Por fim, agradeço a UEM pelo suporte financeiro durante a realização do trabalho.

Referências

CANALE D. Mecanismos de lesão renal em ratos com deficiência de Vitamina D submetidos ao tratamento com Tenofovir, 2014.

CUNHA C. T. et al. Níveis séricos de vitamina D em pacientes portadores de HIV e sua associação com fatores clínicos e nutricionais. **Nutr. clín. diet. hosp.**, 39(2), p.140-147, 2019.

LORVAND, H. et al. **Regression of Non-Alcoholic Fatty Liver by Vitamin D Supplement: A Double-Blind Randomized Controlled Clinical Trial.** Arch Iran Med, 19, p. 631-638, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos.** Brasília, 2018. 416p.

SHIVAKOTI, R. et al. Effect of baseline micronutrient and inflammation status on CD4 recovery post-cART initiation in the multinational PEARLS trial. **Clinical Nutrition**, v. 38, n. 3, p. 1303–1309, 2019.