

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

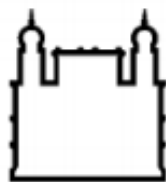
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Oswaldo Cruz
Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical

**Deficiência de vitamina D em indivíduos HIV-positivos expostos
ou não a esquemas antirretrovirais: um estudo transversal**

Guilherme Almeida Rosa da Silva

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2014



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

**Instituto Oswaldo Cruz
Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical**

Guilherme Almeida Rosa da Silva

**Deficiência de vitamina D em indivíduos HIV-positivos expostos
ou não a esquemas antirretrovirais: um estudo transversal**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz como
parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre
em Medicina Tropical**

Orientador: Dr. Filipe Aníbal Carvalho Costa

**Rio de Janeiro
Fevereiro de 2014**

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

S586 Silva, Guilherme Almeida Rosa da

Deficiência de vitamina D em indivíduos HIV-positivos expostos ou não a esquemas antirretrovirais: um estudo transversal / Guilherme Almeida Rosa da Silva. – Rio de Janeiro, 2014.

xvii, 74 f.: il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2014.

Bibliografia: f. 55-74

1. Vitamina D. 2. Síndrome de imunodeficiência adquirida. 3. Antirretrovirais. I. Título.

CDD 616.399

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Oswaldo Cruz

Curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical

Esta dissertação intitulada

**Deficiência de vitamina D em indivíduos HIV-positivos
expostos
ou não a esquemas antirretrovirais: um estudo transversal**

de autoria de:

Guilherme Almeida Rosa da Silva

será avaliada pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. (Presidente) Walter de Araújo Eyer Silva
Prof. Fernando Raphael de Almeida Ferry
Prof. Márcio Neves Bóia
Prof. Martha Cecília Suárez Mutis

Dissertação defendida em 14/03/2014

**Para todos aqueles que dedicaram
a maior parte de suas horas
em busca dos
segredos do universo**

Este trabalho é uma singela homenagem a todos os meus professores, em especial:

Prof. Manoel Luís Costa (Professor de Iniciação Científica – UFRJ)

Prof. Mário Ary Pires Neto (Professor de Anatomia – UFRJ)

Prof. Enéas Ferreira Carneiro (Professor de Eletrocardiografia)

Prof. Adolpho Millech (Professor de Endocrinologia)

Prof. Fernando Raphael de Almeida Ferry (Professor da UNIRIO)

Dr. Ricardo de Souza Carvalho (Médico da UNIRIO)

Prof. Jorge Francisco da Cunha Pinto (Professor da UNIRIO)

Prof. Marcelo Costa Velho Mendes de Azevedo (Professor da UNIRIO)

Prof. Rogerio Neves Motta (Professor da UNIRIO)

Prof. Adilson José de Almeida (Professor da UNIRIO)

Prof. Marilza Campos Magalhães (Professor da UNIRIO)

Prof. Carlos Alberto Morais de Sá (Professor da UNIRIO)

Prof. Walter de Araújo Eyer Silva (Professor da UNIRIO)

Prof. Filipe Anibal Carvalho Costa (Orientador – FIOCRUZ)

Para vocês, ofereço toda minha gratidão pelos ensinamentos.

“Se vi mais longe, foi porque estava sobre os ombros de gigantes”.

Isaac Newton-1676.

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar, e sempre, aos meus pais Dr. Jorge Rosa da Silva e Aurea Almeida Rosa da Silva por serem um completo exemplo de honestidade, trabalho árduo e objetivo focado que eu levarei em minha memória e atitude pelo resto da minha vida. Vocês propiciaram o melhor estudo e a melhor formação de caráter que um filho pode ter. Devo minha vida a vocês.

Agradeço aos meus amigos e colegas da vida e da faculdade: Eduardo, Maurício, Nélio, Fábio, Juninho, Babu, Felipe Maciel, Leonardo Costa, Kiss, Rafael, Rodrigo, Erik, Daniel, Leonardo, Kano, Dudu, Ricardo, Lavínia, Renata, Amanda, Rafaela, Emanuel, Diogo, Marcos, Karina e muitos outros que, apesar de algumas distâncias no dia a dia, continuam a pensar positivo por mim.

Agradeço com muito carinho a todos os pacientes, que mesmo inconscientemente, através da análise de seus prontuários, pelo carinho e pela demonstração de confiança que tem para comigo. Envio nesse momento pensamentos positivos para que tudo esteja bem em sua saúde e em sua família.

Agradeço a todos os funcionários de apoio, seguranças, faixineiros, recepcionistas, enfermeiros, técnicos de laboratório, responsáveis técnicos pelos exames laboratoriais, porque sem o trabalho de vocês nem a assistência e nem a pesquisa seria possível. Vocês são os heróis que batalham em silêncio a cada dia.

Agradeço ao meu orientador Dr. Filipe Anibal Carvalho Costa por todo o suporte prestado e sua paciência. Espero ter sido um mestrando que um dia você vai se orgulhar muito e tomara que eu não tenha lhe dado muito trabalho. Espero que possamos trabalhar em conjunto outras vezes.

Agradeço a todos os pensadores e cientistas que inspiram minhas leituras todas as noites com suas histórias, pensamentos e descobertas maravilhosas. Vocês me fizeram despertar em busca da verdade e me deram a curiosidade para levantar, estudar e trabalhar todos os dias.

Agradeço aos meus Professores já citados: Prof. Manoel Luís Costa (Professor de Iniciação Científica – UFRJ), Prof. Mário Ary Pires Neto (Professor de Anatomia – UFRJ), Prof. Enéas Ferreira Carneiro (Professor de Eletrocardiografia), Prof. Adolpho Millech (Professor de Endocrinologia), Prof. Fernando Raphael de Almeida Ferry (Professor da UNIRIO), Prof. Ricardo de Souza Carvalho, Prof. Jorge Francisco da Cunha Pinto (Professor da UNIRIO), Prof. Marcelo Costa Velho Mendes de Azevedo (Professor da UNIRIO), Prof. Rogerio Neves Motta (Professor da UNIRIO), Prof. Adilson José de Almeida (Professor da UNIRIO), Prof. Marilza Campos Magalhães (Professor da UNIRIO), Prof. Carlos Alberto Morais de Sá (Professor da UNIRIO), Prof. Walter de Araújo Eyer Silva (Professor da UNIRIO). Vocês representam a lembrança em minha memória de todos os professores que passaram em minha vida, desde o maternal até a pós-graduação, aqueles que contribuíram muito para minha formação e a quem devo honrar seus nomes todos os dias com o suor do meu trabalho. Meus mestres.

“Não sei o que possa parecer aos olhos do mundo, mas aos meus pareço apenas ter sido como um menino brincando à beira-mar, divertindo-me com o fato de encontrar de vez em quando um seixo mais liso ou uma concha mais bonita que o normal, enquanto o grande oceano da verdade permanece completamente por descobrir à minha frente”.

Isaac Newton

“A leitura após certa idade distrai excessivamente o espírito humano das suas reflexões criadoras. Todo o homem que lê de mais e usa o cérebro de menos adquire a preguiça de pensar”.

Albert Einstein

“O sentido da vida consiste em que não tem sentido nenhum dizer que a vida não tem sentido”.

Niels Bohr

“O maior inimigo do conhecimento não é ignorância, mas a ilusão do conhecimento”.

Stephen Hawking

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e Siglas.....	XI
Lista de Figuras e Tabelas.....	XIII
Resumo.....	XV
1. Introdução.....	1
1.1. Aspectos Fisiológicos da Vitamina D.....	3
1.2. Ação Molecular da Vitamina D.....	9
1.3. Ações da Vitamina D no Metabolismo Osteomineral.....	10
1.4. Vitamina D e Imunidade.....	11
1.5. Vitamina D e Doenças Cardiovasculares.....	13
1.6. Vitamina D e Neoplasias.....	14
1.7. Aspectos relevantes da Vitamina D na AIDS.....	17
2. Justificativa.....	23
3. Objetivos.....	25
3.1 Objetivo geral.....	25
3.2 Objetivos específicos.....	25
4. Materiais e Métodos.....	26
4.1. Local de Estudo.....	26
4.2. Desenho do Estudo.....	27
4.2.1. Amostra.....	27
4.2.3. Variáveis.....	28
4.3. Análise estatística.....	30
4.4. Dosagem plasmática de vitamina D.....	30
4.5. Contagem de linfócitos T CD4 ⁺	31
4.5.1. Metodologia para coleta de material para contagem de linfócitos T CD4 ⁺	31
4.6. Contagem de carga viral plasmática do HIV.....	32
4.6.1. Coleta de material para quantificação do RNA viral do HIV-1.....	32
4.6.2 Preparação e Armazenamento do Plasma.....	32

4.6.3 Técnica.....	33
5. Parecer do comitê de ética em pesquisa.....	34
6. Resultados.....	35
7. Discussão.....	48
8. Conclusões.....	53
9. Referências Bibliográficas.....	55
ANEXO I (Parecer do CEP).....	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3TC – lamivudina

AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

ATV – atazanavir

AZT – zidovudina

DDI – didanosina

DRV – darunavir

EFV - efavirenz

EUA - Estados Unidos da América

FA - Fosfatase Alcalina

HIV - Vírus da imunodeficiência humana

HUGG – Hospital Universitário Gaffrée e Guinle

IMC - Índice de Massa Corporal

IP - Inibidor de Protease

IRIS - Síndrome de reconstituição Imune

LPS - Lipopolissacarídeo

LPV – lopinavir

NHANES III - *Third National Health and Nutrition Examination Survey*

NVP – nevirapina

PCR- *Polymerase chain reaction*

r – ritonavir

RAL – raltegravir

RR - Receptores retinóides

RVD - Receptor de vitamina D

TARV - Tratamento antirretroviral

TDF -tenofovir

UI - Unidades Internacionais

VD - Vitamina D

VDRE - Elementos de resposta à vitamina D

WHO - *World Health Organization*

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 – Representação esquemática do processo de síntese do 7-dehidrocolesterol no organismo.....	3
Figura 2 - Representação esquemática das vias metabólicas da VD.....	6
Figura 3 - Hidroxilação da molécula de VD através do citocromo p450 mitocondrial.....	7
Figura 4 - Hidroxilação da molécula de VD através do citocromo p450 microsomal.....	8
Figura 5 – Ação molecular da Vitamina D.....	10
Tabela 1 – Características da amostra de 125 pacientes HIV-positivos estudada no Hospital Universitário Gaffrée e Guinle.....	36
Figura 6 - Correlação entre concentração plasmática de VD (ng/dL) e idade (meses).....	38
Figura 7 - Médias de concentração plasmática de VD (ng/dL) entre pacientes do sexo feminino e masculino.....	39
Figura 8 - Correlação entre concentração plasmática de VD (ng/dL) e o tempo acumulado de uso de TARV (meses).....	40
Figura 9 - Correlação entre concentração plasmática de VD (ng/dL) e tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV (meses).....	41
Figura 10 – Correlação entre concentração plasmática de V (ng/dL) e contagem de linfócitos TCD4 ⁺ (cel/mm ³).....	42
Figura 11 – Comparação entre médias da concentração plasmática de VD (ng/dL) conforme as faixas de contagem de linfócitos TCD4 ⁺	43
Figura 12 – Correlação entre a concentração plasmática de VD (ng/dL) e o log da carga viral do HIV.....	44

Figura 13 – Regressão linear realizada entre a concentração plasmática de VD (ng/dL) e o tempo de uso acumulado de cada antirretroviral individualmente (meses).....45

Figura 14 – Regressão linear realizada entre a concentração plasmática de VD (ng/dL) e o tempo de uso acumulado de EFZ.....46

Tabela 2 - Correlação entre a concentração plasmática de VD (ng/dL) e o tempo de cumulativo de uso dos diferentes antirretrovirais (meses).....46

Tabela 3 – Distribuição amostral dos diferentes TARV e médias de concentração plasmática de VD (ng/dL).....47

RESUMO

A deficiência de vitamina D é uma condição subdiagnosticada e geralmente não aventada como alvo de investigação laboratorial por parte dos clínicos. Estima-se que em torno de 36% dos adultos saudáveis e 57% dos pacientes internados apresentem algum grau de deficiência de vitamina D. A prevalência elevada desta deficiência deve-se aos polimorfismos dos genes implicados na resposta à vitamina D, baixa exposição solar, interações medicamentosas e aspectos nutricionais. A aplicação das pesquisas relacionadas à vitamina D e AIDS se baseia em possíveis usos na redução da transmissibilidade, redução da progressão clínica, interações medicamentosas, redução na incidência de infecções, neoplasias, doenças autoimunes e queda da mortalidade geral. Este estudo visa obter a prevalência da deficiência de vitamina D entre em pacientes com diagnóstico de infecção pelo HIV acompanhados em um grande ambulatório de referência no município do Rio de Janeiro, avaliar a associação do uso de antirretrovirais e deficiência de vitamina D, associação entre a contagem de linfócitos TCD4⁺ e a deficiência de vitamina D, associação entre a carga viral plasmática do HIV e a deficiência de vitamina D e realizar a análise estatística dos dados utilizando técnicas descritivas e exploratórias. Dos pacientes estudados, um total de 91 (72,8%) apresentou deficiência de vitamina D, definida por concentração plasmática inferior a 32 ng/dL. O grupo foi classificado categoricamente em deficiência grave, com valores inferiores a 10 ng/dL (5 indivíduos), deficiência moderada, entre 10-19 ± (36 indivíduos), deficiência leve, 20-31 ng/dL (50 indivíduos) e suficiência, maiores ou iguais a 32 ng/dL (34 indivíduos). Não foi encontrada associação entre as concentrações plasmáticas de vitamina D e as variáveis idade, sexo, tempo de diagnóstico, tempo de uso de terapia antirretroviral, carga viral plasmática do HIV e esquema antirretroviral atual. Através de regressão linear, foi encontrada uma tendência de associação entre a concentração plasmática de vitamina D e a contagem de linfócitos T CD4⁺ de maneira inversamente proporcional ($R^2 = 0,029$; $p = 0,058$). Houve correlação estatisticamente significativa entre o tempo acumulado de uso de efavirenz e a concentração plasmática de vitamina D de forma inversamente proporcional ($R^2 = 0,071$ e $p = 0,03$). Quando utilizado o teste T para comparação entre médias entre os usuários de TARV ($VD_{média} = 25,91 \pm 12,226$) e os virgens de tratamento ($VD_{média} = 29,71 \pm 12,141$), não foi encontrada diferença estatisticamente significativa ($p = 0,2$). Este estudo sugere que a deficiência de vitamina D entre os pacientes com a infecção pelo HIV pode estar associada ao tempo acumulado de uso de efavirenz.

Palavras chave: Vitamina D, Síndrome de imunodeficiência adquirida, antirretrovirais

ABSTRACT

The vitamin D deficiency is an underdiagnosed condition and generally not investigated by the clinical laboratory. It is estimated that around 36 % of healthy adults and 57 % of hospitalized patients in the U.S. have some degree of vitamin D deficiency. The high prevalence of this condition is due to polymorphisms of genes involved in the response to vitamin D, low sun exposure, drug interactions, and nutritional aspects. The application of research related to vitamin D and AIDS is based on possible uses: reduction in transmission, reduction in clinical progression, drug interactions, reduced incidence of infections, malignancies, autoimmune diseases, and decreased overall mortality. This study aims to determine the prevalence of vitamin D deficiency among patients diagnosed with HIV infection followed at a great reference outpatient clinic in the city of Rio de Janeiro, assess the association between use of antiretroviral drugs and vitamin D deficiency, association between CD4 + lymphocyte count and vitamin D, between plasma HIV viral load and vitamin D deficiency, and perform statistical analysis of the data using descriptive and exploratory techniques. Of the patients studied, a total of 91 (72.8 %) had vitamin D deficiency, defined as plasma concentration below 32 ng / dL. The group was rated categorically in severe deficiency with less than 10 ng / dL (5 subjects), moderate deficiency, between 10-19 ng / dL (36 subjects), mild deficiency, 20-31 ng / dL (50 individuals), and sufficiency, greater than or equal to 32 ng / dL (34 individuals). No association was found between plasma concentrations of vitamin D and the variables age, sex, time since diagnosis, duration of use of antiretroviral therapy, plasma HIV viral load, and current antiretroviral regimen. Using linear regression, a trend for association was found between the plasma concentration of vitamin D and T CD4 + lymphocytes in an inversely proportional manner ($R^2 = 0.029$, $p = 0.058$). There was a statistically significant correlation between the cumulative usage time of efavirenz and plasma concentrations of vitamin D in an inversely proportional manner ($R^2 = 0.071$ and $p = 0.03$). When used the T test to compare means between HAART users ($12,226 + VD_{m\u00e9dia} = 25.91$) and naïve ($VD_{m\u00e9dia} = 29.71 + 12.141$), no statistically significant difference was found ($p = 0.2$). This study suggests that vitamin D deficiency among patients with HIV infection may be associated to the accumulated time use of efavirenz.

Keywords: Vitamin D, AIDS, antiretroviral drugs

1. Introdução

A deficiência de vitamina D (VD) é uma condição subdiagnosticada e geralmente não aventada como alvo de investigação laboratorial por parte dos clínicos, principalmente os localizados em países abundantes em exposição solar. Parte desta omissão deve-se ao desconhecimento sobre as conseqüências da deficiência subclínica deste nutriente e da incapacidade dos profissionais em reconhecerem as formas clinicamente manifestas da deficiência de VD (Unger et al., 2010).

Estima-se que em torno de 36% dos adultos saudáveis e 57% dos pacientes internados nos EUA apresentem algum grau de deficiência de VD (Holick et al., 2006). Tal condição é verificada em maior taxa nos moradores de países com menor exposição solar, idosos, subnutridos e em pacientes portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (Holick et al., 1989, Rodriguez et al., 2009).

A VD é considerada um hormônio esteroide desde a década de 60 e possui sua principal função atribuída ao metabolismo do cálcio e do fosfato. Este controle é realizado através de um balanço homeostático entre a glândula paratireóide, osso, rim e intestino (Premaor et al., 2006, Holick et al., 2006). Além do quadro clássico de raquitismo em crianças e osteopenia em diferentes graus nos adultos, a deficiência crônica e subclínica de VD vêm sendo implicada como fator de risco em processos patogênicos, tal como a síndrome metabólica, neoplasias e doenças da autoimunidade (Mathieu et al., 2005, Cantorna et al., 2006, Holick et al., 2006, Pittas et al., 2007).

O interesse na pesquisa das diversas interações metabólicas provocadas pela deficiência de VD no indivíduo com AIDS deve-se, entre outros ainda pouco elucidados, ao seu papel evidenciado na disfunção da imunidade celular com predisposição às infecções oportunistas; no aumento do risco da Síndrome de Reconstituição Imune (IRIS); na deficiência de VD agravada pelo tratamento antirretroviral (TARV); no aumento da prevalência de anemia; na prevalência crescente de osteoporose e ao aumento da mortalidade geral em decorrência de complicações cardiovasculares da síndrome metabólica (Liu et al., 2007, Conesa-Botella et al., 2009, Welz et al., 2010, Mehta et al., 2010, Conrado et al., 2010, Szep et al., 2011).

1.1. Aspectos Fisiológicos da Vitamina D

A VD é sintetizada no organismo humano a partir do precursor 7-deidrocolesterol, intermediário do metabolismo do colesterol, através da exposição cutânea aos raios ultravioletas. O 7-deidrocolesterol sofre clivagem fotoquímica entre a ligação dos carbonos 9 e 10 do anel esteroide formando a pré-VD. Devido sua característica termolábil, a pré-VD pode sofrer um rearranjo molecular e converter-se em vitamina D₃ que, por sua vez, será hidroxilada nos carbonos da posição 25 e 1 para formação da 1,25(OH)₂D₃. Outro caminho possível é a isomerização da pré-VD em lumisterol e taquisterol, produtos inertes que previnem o excesso na produção de VD por exposição solar excessiva. Tal prevenção também é realizada pelo aumento da pigmentação cutânea. O processo de síntese do 7-deidrocolesterol está apresentado na Figura 1 (Holick et al., 1980).

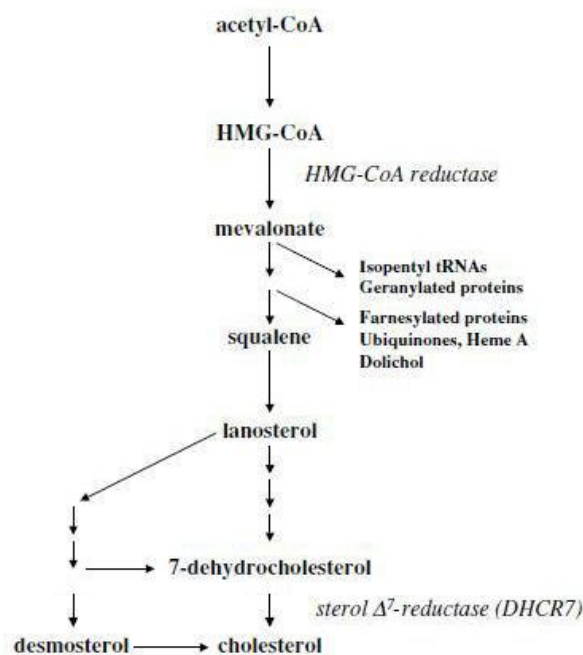


Figura 1 – Representação esquemática do processo de síntese do 7-deidrocolesterol no organismo.

Uma forma alternativa de se obter VD é através da dieta. Por ela, institucionalizados, idosos e pessoas que vivem em países não tropicais possuem sua principal fonte a vitamina. Com as recomendações médicas para prevenção do câncer de pele, a população em geral passou a limitar o horário em relação à exposição aos raios solares e utilizam filtros solares com maior frequência. Isto faz da ingestão de VD um mecanismo cada vez mais importante para a aquisição do nutriente (Thomas et al., 2000).

As principais fontes de VD são a gema do ovo, óleos de peixe, cereais enriquecidos industrialmente com vitaminas e, de forma secundária, as carnes e leites (Holick et al., 1992). A VD é absorvida nos enterócitos e endereçada ao sistema linfático, penetrando na circulação sanguínea ligada a uma proteína ligadora de VD e, em menor parte, à albumina. O transporte transmembrana do complexo VD-proteína ligadora parece ser facilitado em alguns tecidos, como os rins, por uma proteína de membrana megalina-cubilina. No fígado, a VD sofre 25-hidroxilação pelo citocromo p450 (CYP27A1 (mitocondrial), CYP2J3 (microsomal), CYP2R1 (microsomal), CYP3A4 (microsomal)) formando a 25(OH)D, voltando à circulação para chegar até os rins ou a outros tecidos e células conversoras. Dentre estes, o CYP27A1 e o CYP2R1 possuem atividade de 25-hidroxilase melhor estabelecida. Após esta etapa, a 25(OH)D recebe a 1 α -hidroxilação nos rins e macrófagos através do citocromo p450 (CYP27B1) formando a 1,25(OH)₂D₃, composto biologicamente ativo (Takeyama et al., 1997, St-Arnaud et al., 1997, Fu et al., 1997, Jones et al., 2013).

A 1,25(OH)₂D₃ possui menor afinidade para as proteínas ligadoras em relação a 25(OH)D, proporcionando maior biodisponibilidade do composto ativo e maior regulação quanto à disponibilidade do precursor. Devido a esta

característica, o exame padrão ouro para avaliar o estoque orgânico de VD é a dosagem plasmática de 25(OH)D, responsável por repor a 1,25(OH)₂D₃ conforme a última é consumida (Bikle et al., 1985, Bikle et al., 1986).

Em relação ao processo de degradação, três vias catabólicas são as principais. Para a 1,25(OH)₂D₃ existe a via do ácido calcitróico e da 1 α ,25(OH)₂D₃-26,23-lactona, através de excreção biliar, e para a 25(OH)D existe a via da 24,25(OH)₂D₃, todas estas viabilizadas pela ação enzimática da CYP24A1 (mitocondrial). Estas vias metabólicas foram revistas e atualizadas recentemente por publicação de Jones e Prosser (Jones et al., 2013). Uma representação esquemática entre os processos metabólicos da VD é apresentada na Figura 2 (Prosser et al., 2004).

Mais especificamente, as enzimas mitocondriais oxidam o NADPH através de uma flavoproteína, a ferredoxina redutase, que transfere elétrons através de outras proteínas para o citocromo p450 mitocondrial na membrana interna, hidroxilando a molécula de VD. As enzimas microssomais agem através do retículo endoplasmático, onde elétrons são capturados por uma NADPH p450 redutase e dois elétrons do NADPH são transferidos sequencialmente para o citocromo p450 microssomal (Jones et al., 2013). Uma representação esquemática dos processos mitocondriais e microssomais estão expressas nas Figuras 3 e 4.

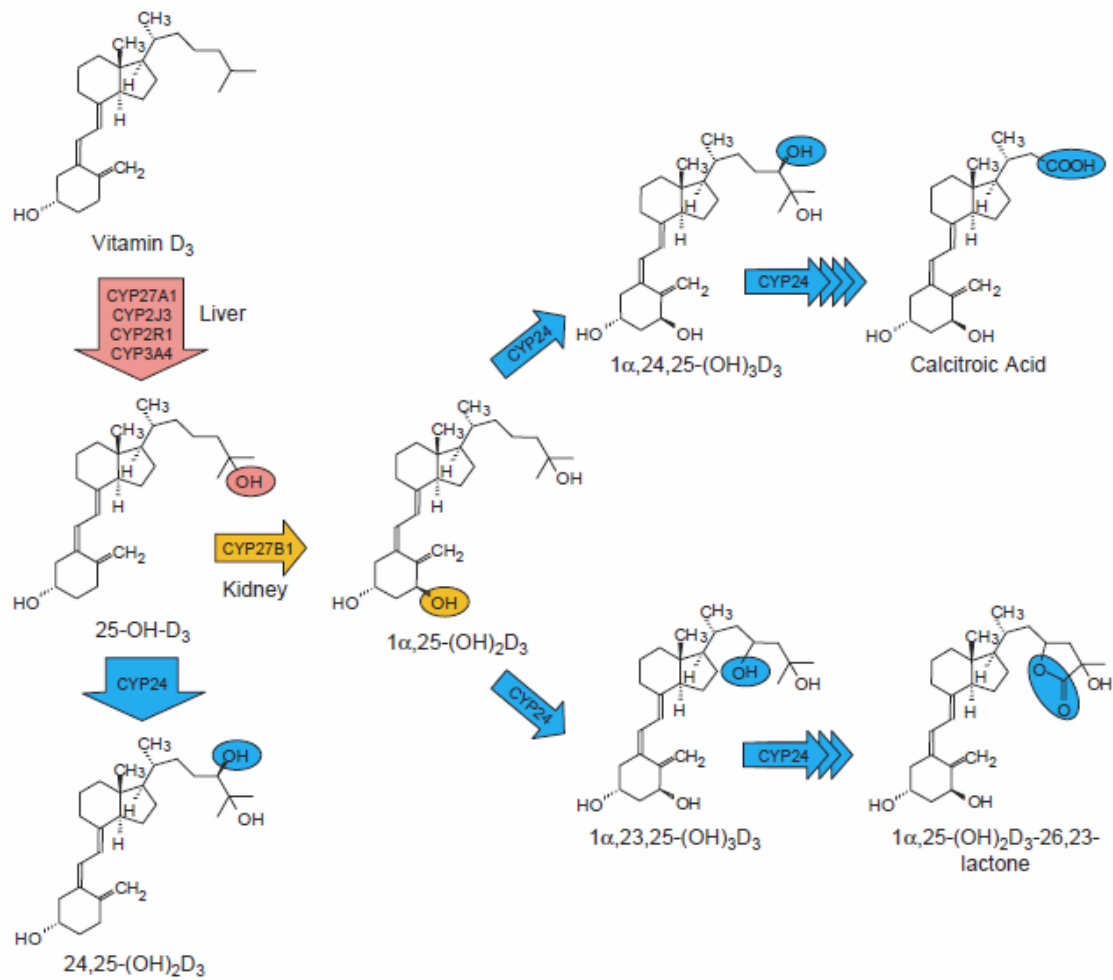


Figura 2 - Representação esquemática das vias metabólicas da VD. Retirado de (Prosser et al., 2004). A seta em vermelho representa o processo de hidroxilação da VD na posição do carbono 25 ocorrida no fígado mediado pelo citocromo p450 para formação da 25(OH)D. A seta em amarelo representa a hidroxilação no carbono 1 da VD para formação do composto ativo 1,25(OH)₂D₃. As setas em azul representam as vias catabólicas da VD e formação de compostos inativos.

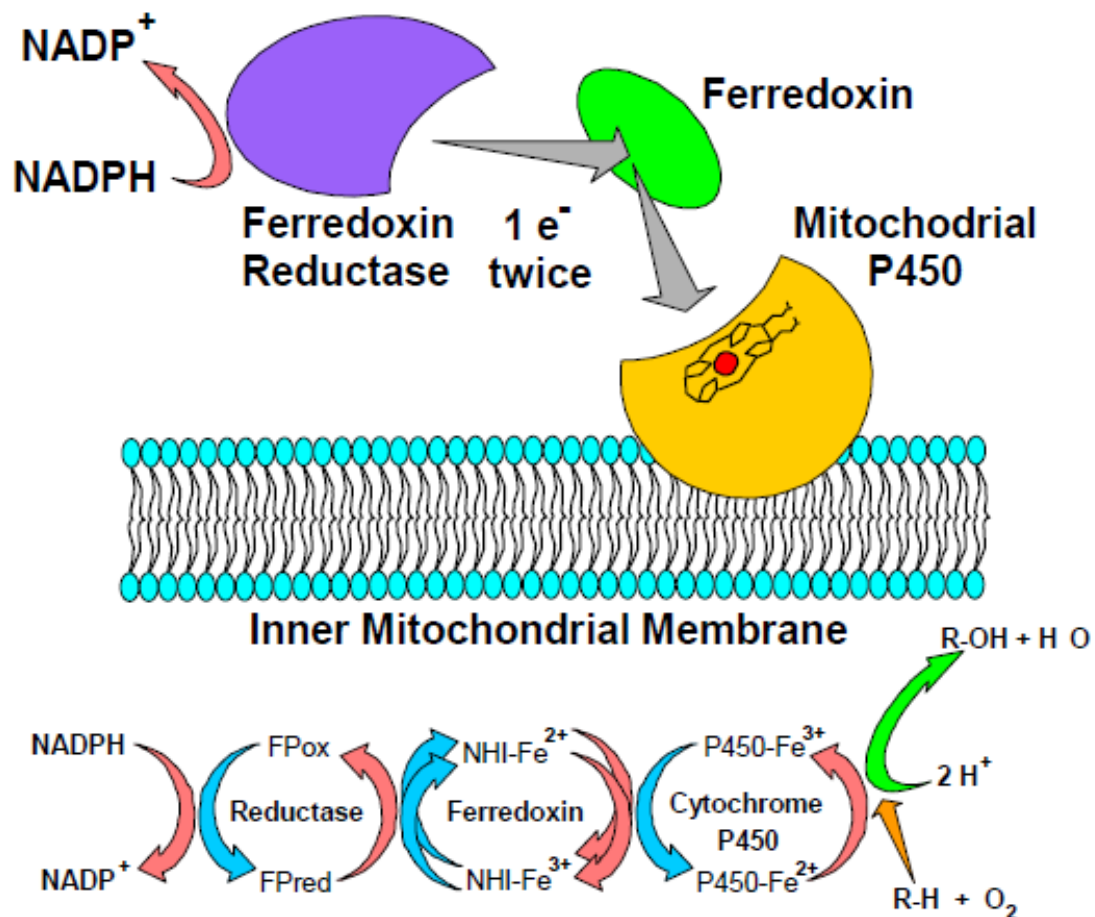


Figura 3 - Hidroxilação da molécula de VD através do citocromo p450 mitocondrial. Retirado de (Jones et al., 2013). Enzimas mitocondriais oxidam o NADPH através de uma flavoproteína, ferredoxina redutase, que transfere elétrons através de outras proteínas para o citocromo p450 mitocondrial na membrana interna hidroxilando a molécula de VD.

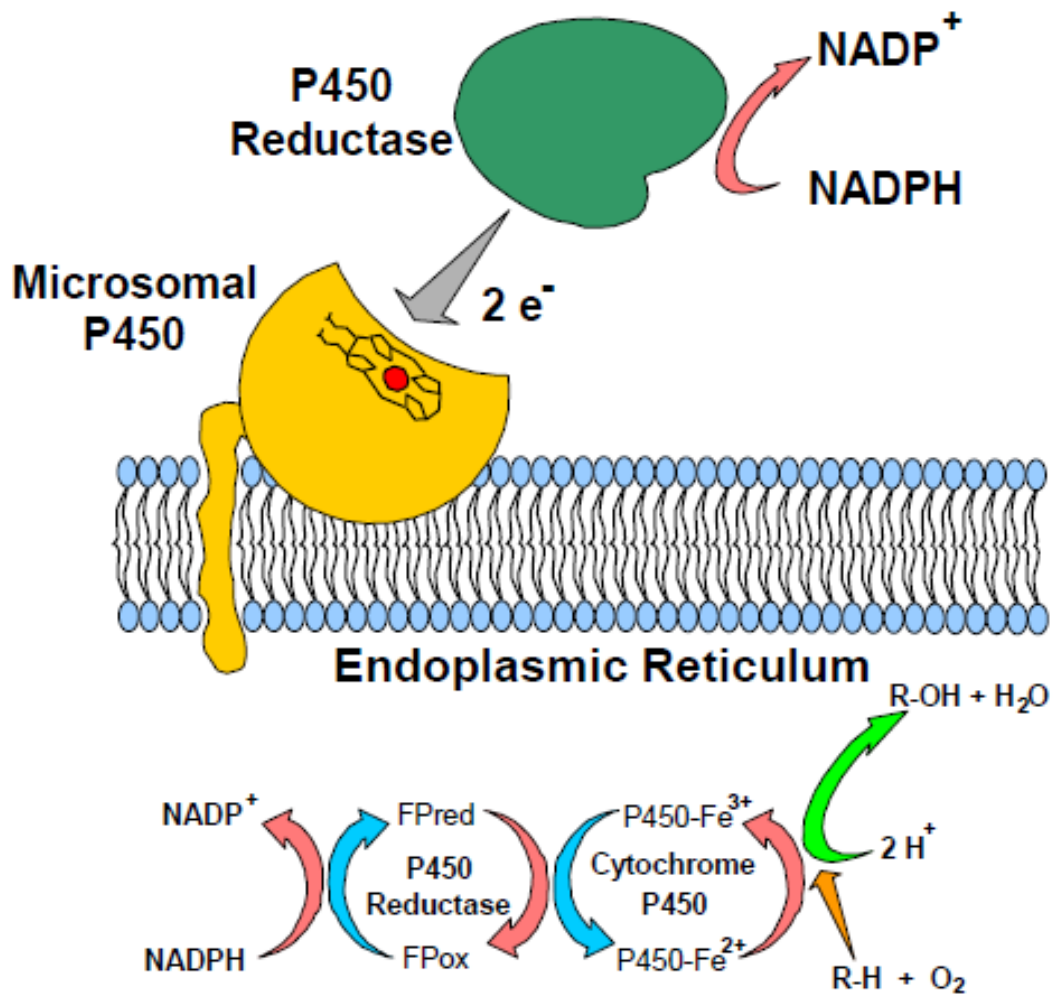


Figura 4 - Hidroxilação da molécula de VD através do citocromo p450 microsomal. Retirado de (Jones et al., 2013). Enzimas microsossomais agem através do retículo endoplasmático, onde elétrons são capturados por uma NADPH P450 redutase e dois elétrons do NADPH são transferidos sequencialmente para o citocromo p450 microsomal.

Os valores ideais para VD para prevenir aspectos subclínicos da deficiência não estão estabelecidos, mas os estudos voltados para o tema têm adotado valores de suficiência com concentrações superiores a 32ng/mL de 25(OH)D plasmática como referência de normalidade (Holick et al., 2006).

1.2. Ação Molecular da Vitamina D

O receptor de VD (RVD) é um receptor nuclear responsável por ativar fatores transcricionais de resposta à VD. O RVD possui uma sequência de DNA do seu domínio de ligação altamente preservado entre os indivíduos. A ligação a RVD se dá por heterodimerização com os receptores retinoides (RR) intracelulares, essenciais para a ligação perfeita com os elementos de resposta à VD (VDRE). A interação entre o RVD/RR atrai um conjunto de proteínas coregulatórias que controlam as modificações das histonas, remodelamento da cromatina e a RNA polimerase II responsável pela transcrição gênica. Genes podem ser ligados ou desligados através desta via e os pontos de regulação e o polimorfismo genético fazem com que a diferenciação celular e as individualidades orgânicas apareçam (Rachez et al., 2000, Glass et al., 2000, Chawla et al., 2001, Dilworth et al., 2001, Rosenfeld et al., 2001, McKenna et al., 2002, Lin et al., 2004). O modelo proposto para ação molecular da VD está expresso na Figura 5 (Davis et al., 2011).

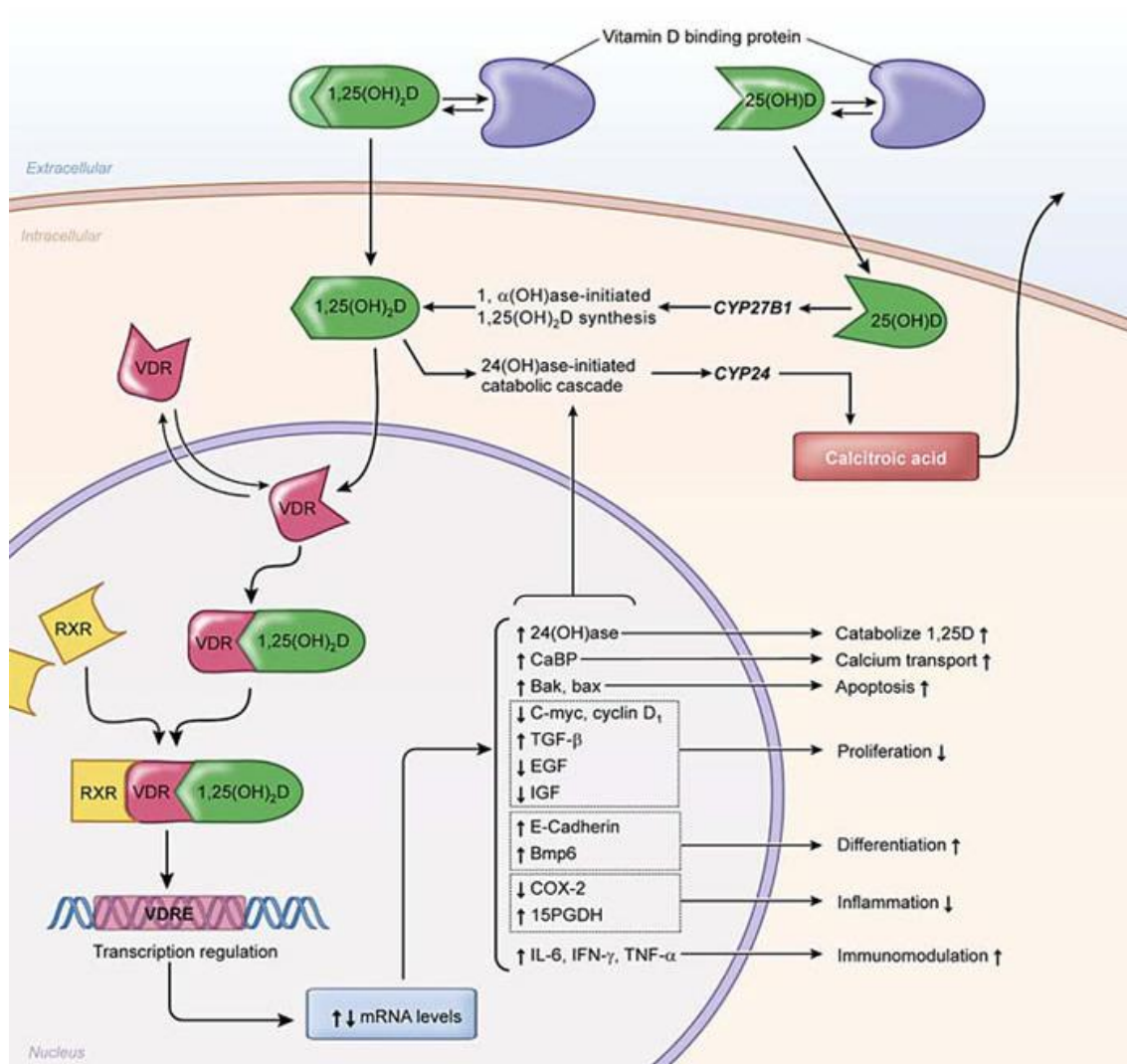


Figura 5 – Ação molecular da Vitamina D. retirado de (Davis et. Al., 2011). VDR – Receptor de vitamina D, RXR – Receptor retinoide, VDRE – Elemento de resposta à Vitamina D.

1.3. Ações da Vitamina D no Metabolismo Osteomineral

A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ é o hormônio determinante para sinalizar o aumento na absorção do cálcio pelo intestino. Ela atua através da indução da fosfatase alcalina (FA) na borda em escova; da $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ ATPase e através de dois canais de cálcio ainda pouco elucidados, TRPV5 e TRPV6 (Hoenderop et al., 1999, Peng et al., 1999). Os fatores envolvidos no transporte transcelular de cálcio (luz intestinal-enterócito) e de saída (enterócito-sangue) são

respectivamente a calbindina e a bomba de cálcio PMCA1b, ambas estimuladas pela $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Wasserman et al., 1992).

Quanto à ação na glândula paratireóide, a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inibe a liberação de paratormônio, regula a transcrição gênica e inibe a proliferação de células nas paratireóides *in vitro*, fato ainda não bem estabelecido *in vivo*. Em ratos *knockout* para o receptor da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, não foram notadas anormalidades nos níveis de paratormônio e nem em relação ao tamanho das paratireóides, demonstrando que a ausência de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ não afeta a homeostase da paratireóide de forma significativa (Li et al., 1998).

Em relação à ação óssea, a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ reprime a síntese de colágeno tipo 1, induz a síntese de osteocalcina e promove a diferenciação de células monocitárias em osteoclastos (Price et al., 1985, Harrison et al., 1989, Yasuda et al., 1998). Entretanto, o fator determinante para a mineralização óssea é o equilíbrio sanguíneo de cálcio e fosfato, verificado em crianças com RVD mutantes para resistência a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e que demonstraram melhora da osteomalácia quando infundidas com cálcio parenteral até atingirem valores normais de calcemia (Balsan et al., 1986).

1.4. Vitamina D e Imunidade

As funções da VD além do metabolismo osteomineral ainda são pouco descritas. O interesse da imunologia sobre este hormônio foi iniciado com a descoberta de RVD em células mononucleares e nos linfócitos T CD4^+ (Bhalla et al., 1983, Provvedini et al., 1983). Ratos *knockout* para o RVD possuem linfócitos T CD4^+ que produzem mais IFN- γ e menos IL-2, IL-4 e IL-5 (Froicu et

al., 2003). Os ratos *knockout* para o RVD exibiram uma resposta Th1 exacerbada em detrimento à resposta Th2 (Carrona et al., 2004). Tal fato apoia os resultados encontrados em ratos *knockout* para RVD quanto a sua resistência em desenvolver asma experimental (via Th2) e na exacerbação da doença inflamatória intestinal induzida em ratos *knockout* para IL-10 (via Th1) (Cantorna et al., 2000, Wittke et al., 2004).

Quanto à aplicação em relação às doenças infecciosas, antes da era antibiótica a VD era utilizada como tratamento de infecções bacterianas. A deficiência de VD promove disfunção macrofágica e maior tendência às infecções (Villamor et al., 2006). A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ não exerceu nenhuma relação protetora às infecções de *Candida albicans* e ao vírus *herpes simplex* em ratos (Cantorna et al., 1998).

Em contrapartida, a deficiência de VD predispõe à tuberculose e a reposição de VD pode ser um fator adjuvante ao tratamento (Martineau et al., 2007). Um estudo indonésio demonstrou 100% de conversão para bacilo álcool-ácido resistente (BAAR) negativo na amostra de escarro em indivíduos com reposição diária de 10.000 unidades internacionais (UI) de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ versus 77% do placebo, após 6 semanas de início do tratamento contra tuberculose (Nursyam et al., 2006).

Um estudo randomizado, duplo-cego, placebo controlado em 365 habitantes de Guiné Bissau suplementados com 100.000 unidades internacionais (UI) de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ao início do tratamento contra tuberculose e uma segunda dose entre 5 e 8 meses não demonstrou melhora em relação à mortalidade e quanto à melhora clínica ou sucesso terapêutico. Foi sugerido que a suplementação pontual com altas doses de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ em duas

oportunidades, espaçadas por meses sem suplementar, ao invés de suplementações diárias poderiam ter interferido desfavoravelmente no resultado (Wejse et al., 2009).

Um estudo entre imigrantes africanos residindo na Austrália demonstrou menor incidência e menor história pregressa de tuberculose em indivíduos com níveis normais de VD (Gibney et al., 2008).

A ligação entre o *Mycobacterium tuberculosis* e o receptor heterodimérico Toll-like 2 aumenta a expressão de RVD e também da 1α -hidroxilase. A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ induz a expressão do peptídeo antimicrobiano catelicidina que é clivada para LL-37, o que pode restringir o crescimento do *Mycobacterium tuberculosis*. Além disso, ocorre a indução de IL-12, TNF- α o que contribui para o controle da infecção. A elucidação dos mecanismos pelos quais peptídeos antimicrobianos restringem o crescimento do *Mycobacterium tuberculosis* podem levar a novas abordagens farmacológicas, incluindo o uso de VD (Liu et al., 2007, Martineau et al., 2007, Fabri et al., 2011).

1.5. Vitamina D e Doenças Cardiovasculares

Estudos epidemiológicos baseados no *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) oferecem evidências clínicas de que a deficiência de VD está relacionada ao maior risco de mortalidade cardiovascular (Melamed et al., 2008). Um estudo prospectivo com caso-controle aninhado em adultos que foram estudados por dez anos quanto aos fatores de risco cardiovasculares, demonstrou maior índice de infarto agudo do

miocárdio entre indivíduos deficientes em VD (corte de 30 ng/mL) (Giovannucci et al., 2008).

No NHANES III, 8421 adultos saudáveis apresentaram relação inversa entre os níveis de 25(OH)D e síndrome metabólica (Ford et al., 2005). O *Framingham Offspring Study* concluiu que o risco de doenças cardiovasculares em pacientes com deficiência de VD foi dobrado nos portadores de hipertensão arterial sistêmica (Wang et al., 2008). Um estudo com 107 pacientes demonstrou a associação entre níveis deficientes de VD com maior insulinemia, sem, no entanto, encontrar associação com a presença de lipodistrofia entre a população estudada (Hammond et al., 2012).

1.6. Vitamina D e Neoplasias

A correlação através de estudos entre a associação de VD e câncer tem sido cada vez mais frequentes (Hansen et al., 2001). A alta prevalência de deficiência de VD pode estar relacionada ao desenvolvimento de neoplasias de cólon, mama, ovário e próstata (Garland et al., 1980, Gorham et al., 1989, Garland et al., 1990, Schwartz et al., 1990, Lefkowitz et al., 1994, Grant et al., 2002).

Em relação aos tumores de cólon, 20 estudos apresentaram benefícios relacionados aos valores de VD e exposição solar, culminando em redução do risco de mortalidade e, inclusive, do próprio risco em desenvolver o câncer. Em outros trabalhos, cinco estudos demonstraram que os níveis de VD reduzem o risco de câncer colorretal de forma não estatisticamente significativa e cinco estudos demonstraram ausência de associação (Peters et al., 1992, Bostick et

al., 1993, Kampman et al., 1994, Pritchard et al., 1997, Zheng et al., 1998, Marcus et al., 1998, Jarvinen et al., 2001, Terry et al., 2002, Grant et al., 2003, Robsahm et al., 2004, Garland et al., 2006).

Quanto ao câncer de mama, em 13 estudos encontrados, nove avaliaram associação positiva entre níveis elevados de VD e redução no risco de câncer de mama. Em um deles, o benefício foi restrito às mulheres em pré-menopausa e em outros três não foram encontrados nenhuma associação (Garland et al., 1980, Garland et al., 1990, Gorham et al., 1990, Garland et al., 1992, Hiatt et al., 1998, Janowsky et al., 1999, Freedman et al., 2002, Grant et al., 2002, Shin et al., 2002, Mizoue et al., 2004, Robsahm et al., 2004, Garland et al., 2006).

Em buscas por pesquisas associando VD e câncer de próstata, 13 estudos de 26 encontraram associação positiva quanto aos valores elevados de VD e proteção ao câncer de próstata. Nos demais trabalhos foram encontrados associação limítrofe em um, uma associação em forma de U em outro e em 11 não foram encontrados associações estatisticamente significantes (Schwartz et al., 1990, Hanchette et al., 1992, Corder et al., 1993, Braun et al., 1995, Gann et al., 1996, Andersson et al., 1996, Schwartz et al., 1997, Giovannucci et al., 1998, Andersson et al., 1998, Nomura et al., 1998, Chan et al., 2000, Ahonen et al., 2000, Tuohimaa et al., 2001, Luscombe et al., 2001, Kristal et al., 2002, Grant et al., 2002, Freedman et al., 2002, Rodriguez et al., 2003, Grant et al., 2003, Grant et al., 2004, Platz et al., 2004, Grant et al., 2004, Tuohimaa et al., 2004, John et al., 2004, Mizoue et al., 2004, Robsahm et al., 2004, Garland et al., 2006).

Uma avaliação em câncer de ovário foi relacionada maior taxa de mortalidade entre pessoas que possuíam ingestão insuficiente da VD (Salazar-Martinez et al., 2002, Garland et al., 2006).

Os polimorfismos do gene do receptor de VD apresentam correlações importantes com a incidência de câncer. O genótipo Bsm I apresenta formas BB, Bb e bb. O genótipo bb apresenta correlação com baixos níveis circulantes de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e está presente em 35% da população americana. Homens com esse genótipo apresentam o dobro da incidência de câncer de cólon e próstata em relação ao BB (Ma et al., 1998, Habuchi et al., 2000, Garland et al., 2006). O risco de câncer de mama em mulheres bb foi o dobro e ao risco de metástases foi o quádruplo quando comparados ao genótipo BB (Kristal et al., 2002, Rodriguez et al., 2003, Platz et al., 2004). Indivíduos com genótipo TT, apresentado por 35% da população americana tendem a apresentar cinco vezes mais escore Gleason ≥ 5 no câncer de próstata e o dobro de metástases linfáticas no câncer de mama (Kibel et al., 1998, Ruggiero et al., 1998, Rees et al., 1998, Lundin et al., 1999, Blazer et al., 2000, Bretherton-Watt et al., 2001, Guy et al., 2003).

A VD inibe a angiogênese, aumenta a adesão intercelular e a adesão por *gap junctions*, o que culminam na redução da proliferação celular por inibição por contato. A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inibe a mitose nas células epiteliais mamárias e aumenta a liberação pulsátil de Ca^{++} intracelular, processo que induz a diferenciação terminal e a apoptose (Shokravi et al., 1995, Majewski et al., 1996, Campbell et al., 1997, Brenner et al., 1998, Iseki et al., 1999, Mantell et al., 2000, Palmer et al., 2001, Mathiasen et al., 2002).

1.7. Aspectos Relevantes da Vitamina D na AIDS

Um estudo conduzido na Holanda entre mulheres de média de 36,5 anos, positivas para o vírus da imunodeficiência humana (HIV), demonstrou uma prevalência na deficiência de VD de 58,1% (valores de referência de 10-14 ng/mL para inverno e verão respectivamente) (Van Den Bout-Van Den Beukel et al., 2008). Um estudo similar realizado entre adultos e adolescentes nos Estados Unidos (EUA), a prevalência atingiu 87% (corte de 15ng/mL) (Stephensen et al., 2006). Na Itália, Espanha e novamente nos EUA as prevalências de deficiência de VD encontradas entre adultos HIV positivos foram de 81,25%, 86% e 74,4% com cortes de 10 ng/dL, 18 ng/dL e 32 ng/dL respectivamente (Seminari et al., 2005, Aparicio et al., 2006, Rodríguez et al., 2009).

Em uma avaliação realizada em 200 pacientes portadores do HIV no Centro-Sul dos EUA (Houston, Texas) foi encontrada uma prevalência de 64% de deficiência de VD (<20ng/dL) e destes 20,5% apresentavam deficiência grave (<10ng/dL), a etnia afro-americana, o IMC elevado e o tabagismo foram implicados como fatores de risco para deficiência de VD (Crutchley et al., 2012). Da mesma forma, um estudo muito similar foi conduzido em Nova York, com 274 pacientes, encontrando deficiência (<10 ng/mL) em 21,2% dos casos, insuficiência (10-30 ng/mL) em 68,6% e suficiência (>30 ng/mL) em 10,2%. Os grupos apresentaram de forma estatisticamente significativa uma carga viral em log inversamente proporcional aos níveis de VD e as pessoas da raça negra foram mais acometidas pela deficiência (Kim et al., 2012).

Em um estudo realizado em mulheres infectadas pelo HIV na Tanzânia, um valor basal diminuído de 25(OH)D (32ng/mL) esteve associado à progressão desfavorável aos estágios III ou IV do *World Health Organization* (WHO)/HIV e à anemia severa. As mulheres com resultados normais de 25(OH)D, situadas no maior quintil, obtiveram menor mortalidade geral quando comparadas aquelas acompanhadas no menor quintil. Apesar disso, nenhuma relação estatisticamente significativa foi obtida em relação às contagens de linfócitos T CD4⁺ (Mehta et al., 2010).

Um estudo longitudinal norueguês com 53 pacientes detectou que aqueles com níveis inferiores a 25 ng/mL de 25(OH)D, apresentaram menor sobrevida em relação aos pacientes com níveis normais, quando ajustados pelos valores de linfócitos T CD4⁺. A força de associação foi maior no grupo de pacientes com contagem de linfócitos CD4⁺ menores que 50 células/mL (Haug et al., 1994).

O estudo EuroSIDA demonstrou que de 1985 portadores do HIV estudados, 23,7% apresentaram níveis de VD inferiores a 10ng/mL, 65,3% com níveis entre 10 e 30 ng/mL e apenas 11% apresentaram níveis que podem ser considerados normais (acima de 30 ng/mL). Os indivíduos que se apresentaram no menor tercil quanto aos níveis de VD apresentaram durante o seguimento maior mortalidade e complicações clínicas relacionadas à AIDS (Viard et al., 2011).

Um estudo francês com 2994 pacientes relatou prevalência de insuficiência/deficiência em 86,7% dos pacientes, sendo destes 55,6% de insuficiência (10-30ng/dL) e 31,1% de deficiência (<10ng/dL). Foi relatado como fatores de risco o tabagismo, uso de antirretrovirais, níveis de linfócitos T

CD4⁺ < 350 cel/mm³. O EFV foi o único medicamento implicado com elevação substancial do risco OR=1,89 (95% CI 1.45–2.47) (Allavena et al., 2012).

A relação entre a deficiência de VD e a carga viral foi avaliada em poucos estudos. Um dos mais importantes foi realizado pela Universidade de Winsconsin em 112 voluntários e que uma associação entre deficiência de VD e o valor da carga viral foi encontrada em forma de U, com níveis maiores de VD entre os de carga viral indetectável ou em indivíduos com carga viral muito alta (Bearden et al., 2013). Em um modelo experimental, a presença de lipopolissacarídeos (LPS) e da proteína viral do HIV gp120 aumentaram a expressão macrófaga da CYP24A1 (somente LPS) e CYP27B1 (ambos). A CYP27B1 aumenta a conversão de 25(OH)D em 1,25(OH)D e a CYP24A1 acelera o catabolismo da 1,25(OH)D, possibilitando uma possível regulação imunológica e da concentração de VD pelos macrófagos em resposta à alta viremia ou inflamação sistêmica (Pinzone et al., 2013).

Em relação ao uso de TARV, uma análise seccional de 1077 pacientes portadores AIDS demonstrou maior índice de deficiência grave de VD e *turnover* ósseo, medido pela FA, entre os usuários de efavirenz (EFV). O uso de tenofovir (TDF) esteve associado ao maior *turnover* ósseo sem, no entanto, estar relacionado à deficiência de VD (Welz et al., 2010).

O EFV suprime a CYP2R1, o que pode reduzir a atividade da 25(OH)D hidroxilase, que por sua vez, limita a formação de 25(OH)D. A indução da CYP3A4 aceleraria a conversão de 25(OH)VD em 1,25(OH)₂D₃, reduzindo a concentração de 25(OH)D (Ellfolk 2009). O estudo EuroSIDA demonstrou maior associação quanto ao uso de inibidores de protease (IP) e deficiência de

VD, assim como outro estudo demonstrou a mesma associação em usuários de ritonavir (Viard et al., 2011, Dao et al., 2011).

Quanto à transmissão em gestantes carentes de VD (<32 ng/mL), um estudo de 884 mulheres grávidas e portadoras do HIV realizado na Tanzânia, demonstrou taxa de transmissão vertical 50% maior entre o grupo deficiente após seis semanas do parto e o dobro da transmissão entre crianças não infectadas após seis semanas de vida quando aleitadas. O risco global foi 46% maior. A mortalidade entre crianças geradas por gestantes deficientes em VD foi 61% maior durante o acompanhamento (Mehta et al., 2009).

Um estudo entre 460 usuários de drogas intravenosas expostos ao HIV avaliou a taxa de transmissão em relação aos haplótipos do RVD. Foi observado que os polimorfismos rs11568820, rs4516035, rs10735810, rs1544410 e rs17878969 apresentaram redução em 60% do risco, inferindo que o RVD pode estar relacionado à transmissibilidade do HIV (Sanchez-de-la-Torre et al., 2008). O mesmo autor concluiu em outro estudo que o genótipo rs1544410_AA está relacionado à progressão mais lenta da AIDS e redução na taxa de contaminação com o HIV por promover maior resposta ao estímulo pelo 1,25(OH)₂D₃ (Torres et al., 2010). Outros dados relacionados ao risco de transmissão são escassos.

Mais um estudo na Tanzânia observou dados em relação ao índice de massa corporal (IMC) e risco de infecções entre mulheres grávidas portadoras de deficiência de VD (< 32 ng/mL). O resultado encontrado foi que gestantes deficientes apresentavam risco 43% maior em desenvolver caquexia, com um IMC < 18 em dois anos. Quanto às infecções, um risco 27% maior em desenvolver infecções do trato respiratório e 174% maior em apresentar

candidíase foi encontrado nas mulheres deficientes em VD (Mehta et al., 2011). Um estudo americano demonstrou associação positiva entre deficiência de VD e vaginose bacteriana entre mulheres não grávidas infectadas pelo HIV (French et al., 2011).

Em Uganda, 38% dos pacientes com coinfeção tuberculose e HIV apresentaram deficiência de VD (<20ng/mL) versus 22% dos indivíduos com HIV sem tuberculose e 20% dos indivíduos saudáveis (Nansera et al., 2011). Apesar dos inúmeros estudos envolvendo a associação entre infecções, principalmente tuberculose, e deficiência de VD, são escassas as publicações que envolvem pacientes portadores de HIV.

Quanto a Síndrome de Reconstituição Imunológica (IRIS), cada vez mais se estuda o envolvimento da VD e regulação de linfócitos T e macrófagos, reduzindo a ativação macrofágica excessiva. Tal informação conduz ao raciocínio que a atividade antiinflamatória, principalmente Th1 poderia ser útil para prevenir a IRIS e que o início de TARV poderia reduzir a disponibilidade de VD, constituindo mais um fator contribuinte para a fisiopatogênese da IRIS (Holick et al., 2006). Faltam estudos concretos que associam IRIS e VD e que avaliem as hipóteses elaboradas.

Sobre o metabolismo osteomineral, o paciente HIV positivo possui maior risco em desenvolver osteoporose e osteopenia. A prevalência entre indivíduos HIV positivos chegou a 27,7 % *versus* 17,7% apresentado pelo grupo controle, entre indivíduos estudados no sistema de saúde americano (Triant 2008). Em outro estudo englobando 492 pacientes HIV positivos a prevalência de osteopenia foi de 54,6 % em homens e 51,1% em mulheres. A prevalência de osteoporose foi de 33,7 e 8,3% respectivamente. A compilação

dos estudos aponta para fatores de risco diversos, que incluem: baixo IMC; idade elevada; transmissão homossexual; carga viral elevada; baixa contagem de linfócitos CD4⁺; uso de TDF ou IP; tabagismo; hipogonadismo e consumo de álcool (Jones et al., 2008, Cazanave et al., 2008).

O uso de bifosfonados como o alendronato 70mg VO/uma vez por semana associado à suplementação de 1,5g de cálcio por dia e 400-800UI de 1,25(OH)₂D₃ podem ser considerados seguros e eficazes para pacientes portadores de HIV, assim como na população em geral (McComsey et al., 2007). Apesar dos inúmeros estudos contemplando o assunto, principalmente no que diz respeito à alta prevalência de distúrbios ósseos, segurança no tratamento e quanto aos fatores de risco implicados, não foram encontrados aqueles que correlacionem diretamente a deficiência de VD em comparação à doença óssea no HIV. A dose de VD a ser suplementada e as concentrações ideais de 25(OH)D permanecem incertas (McComsey et al., 2010).

Um pequeno estudo de 20 pacientes buscou avaliar a sensibilidade à insulina após 24 e 48 semanas de suplementação com 2000UI de 1,25(OH)₂D₃ em pacientes portadores de HIV. O estudo não demonstrou alterações estatisticamente significantes quanto à resistência insulínica (Van Den Bout-Van Den Beukel et al., 2008). Apesar do grande interesse na associação da deficiência de VD, síndrome metabólica e doenças cardiovasculares, outros estudos com esta correlação não foram encontrados.

Em relação à associação entre HIV, deficiência de VD e o desenvolvimento de neoplasias, como sarcoma de Kaposi e linfomas, não foi encontrada nenhuma evidência científica buscando acessar esta informação.

2. Justificativa

As pesquisas devem contribuir para formação de uma medicina preventiva, de acesso global, aplicando medidas de baixo custo e com grande poder de impacto sobre a qualidade de vida, evolução favorável e redução da mortalidade no tratamento da AIDS.

A VD aparece como substância promissora em estudos relacionados à qualidade de vida e prognóstico de pacientes com AIDS, podendo ser avaliada por métodos laboratoriais simples e com fácil interpretação pelo clínico. Resta ainda, maior investimento em pesquisas para desvendar aspectos fisiológicos, imunológicos, genéticos e bioquímicos da ação da VD.

Cabe aos pesquisadores abordarem por meio de estudos mais elaborados sobre a prevalência da deficiência nos diversos grupos HIV positivos; testar medidas que elevem os níveis plasmáticos de 25(OH)D de maneira eficaz e segura; avaliar uma faixa terapêutica para suplementação e avaliar a periodicidade que a suplementação deve ser administrada. O aspecto da aplicação na redução da transmissibilidade do HIV merece destaque como alvo de novas avaliações. Os fatores clínicos também devem ser abordados, tal como os benefícios quanto aos desfechos de progressão para estágios clínicos de AIDS, influência na contagem de linfócitos T CD4⁺; carga viral; incidência de doenças infecciosas; implicações imunológicas humorais e citotóxicas; incidência de neoplasias e de doenças auto-imunes/IRIS em pacientes suplementados.

Há muito trabalho a ser feito, entretanto as descobertas referentes aos polimorfismos genéticos e suas aplicações nas tendências de um indivíduo a

desenvolver uma determinada complicação da doença crônica ou apresentar uma nova doença é um dos caminhos da medicina do futuro. Os avanços na imunologia, genética e biologia molecular, conquistados até os dias de hoje, devem avançar para os ambulatórios médicos. A VD, como demonstrado, tem espaço a ser ocupado nessa nova realidade.

3. Objetivos

3.1. Objetivo Geral

Estimar a frequência de deficiência de Vitamina D e as concentrações plasmáticas desta substância em um grupo de pacientes HIV-positivos.

3.2. Objetivos Específicos

Identificar fatores associados à deficiência de Vitamina D neste grupo de pacientes, especificamente:

- Tipo de terapia antirretroviral
- Tempo de uso de diferentes antirretrovirais
- Sexo e idade dos pacientes
- Tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV
- Carga viral plasmática atual do HIV
- Contagem de linfócitos TCD4⁺

4. Materiais e Métodos

4.1. Local do Estudo

O estudo foi realizado no Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG). A década de 20 significou, entre outras coisas, o momento em que o Estado dá os primeiros passos na direção da organização da assistência hospitalar geral, até então a cargo da Irmandade da Misericórdia. Essa guinada na organização da saúde pública está intimamente ligada ao processo de reforma que o médico Carlos Chagas coloca em prática, à época, na cidade do Rio de Janeiro. Em 1924-1929 foi construído o hospital, graças à filantropia do industrial Guilherme Guinle e de Cândido Gaffrée, cujas ações estão vinculadas às propostas da Inspetoria de Profilaxia da Lepra e das Doenças Venéreas (Prefeitura do Distrito Federal 1922, Sanglard et al., 2007).

Após a morte de Guilherme Guinle, em 1960, não perdurariam as relações entre o hospital e a família que o fundou e o manteve. Em meados dos anos 1960, um acordo entre o governo federal e a Fundação Gaffrée e Guinle, tendo à frente Carlos Guinle, transferiu para a alçada federal o Hospital, que passou a constituir o Hospital Universitário da Faculdade de Medicina e Cirurgia do Rio de Janeiro, hoje Universidade do Rio de Janeiro (UNIRIO), e teve seu nome alterado para HUGG (Sanglard et al., 2007).

Em 16 de outubro de 1987, através da Portaria nº 05 de 13/10/1987, o HUGG torna-se credenciado como "Centro Nacional de Referência em AIDS". Desde 1989, o HUGG possui um Centro de Testagem e Aconselhamento

Anônimo, passando a ser denominado a partir de 1993, de Centro de Orientação e Apoio Sorológico. A assistência ambulatorial a pacientes com infecção por HIV/AIDS é centralizada no setor de Imunologia. O número acumulado de atendimentos (1983-2004) chega a aproximadamente 6.000 pacientes com sorologia positiva para HIV sendo que destes cerca de 3700 adultos e 900 crianças estão em acompanhamento clínico-ambulatorial nos dias de hoje. O ambulatório de Imunologia é constituído de 10 consultórios e atende em média 40 pacientes por dia, sendo que o setor de Imunologia Pediátrica é responsável pelo atendimento de 50 crianças por semana (Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro acessado em 22 de agosto de 2013).

4.2. Desenho do Estudo

O estudo é descritivo e corresponde a uma série de 125 casos.

4.2.1. Amostra

A partir de uma população de cerca de 4.000 pacientes matriculados no Ambulatório de Imunologia do HUGG, extraiu-se, dos ambulatórios de Terça-feira à tarde e Quinta-feira à tarde (n = 400 pacientes) uma amostra de conveniência de 125 pacientes para estudo da concentração plasmática de VD. Foram incluídos no estudo os pacientes que preenchiam os critérios de inclusão: idade superior a 18 anos, de ambos os sexos e que apresentaram registrados as medições de 25(OH)D, contagem de linfócitos T CD4⁺,

contagem de carga viral realizado na mesma data de coleta, além de dados relacionados ao tratamento da infecção pelo HIV.

Foram excluídos do estudo pacientes que não preenchiam os critérios de inclusão, haviam registrado utilização de qualquer tipo de suplemento vitamínico no último ano, portadores de insuficiência renal crônica com clearance de creatinina menor que 30ml/min e insuficiência hepática, cujo rastreo é realizado através de história, exame físico e exames bioquímicos rotineiros realizados no ambulatório, no mínimo, duas vezes no ano.

4.2.2. Variáveis

As seguintes variáveis foram analisadas para cada paciente: sexo, idade em anos, tempo de diagnóstico do HIV em meses até o momento da realização dos exames, esquema antirretroviral atual, realizado no momento da coleta dos exames, TARV anteriores à coleta dos exames, tempo cumulativo em meses de uso de diferentes ARVs até o momento da coleta dos exames, último registro de carga viral plasmática do HIV, contagem de linfócitos T CD4⁺ e valor de 25(OH)D coletados na mesma data. As variáveis foram classificadas da seguinte forma:

Sexo: categórica, masculino e feminino.

Idade: contínua, em anos completos na data da coleta de amostra sanguínea para dosagem de VD.

Tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV: contínua, em meses até a data da coleta de amostra sanguínea para dosagem de VD.

Terapia antirretroviral

- a) Presença ou ausência de terapia: categórica.
- b) Esquema antirretroviral na data da coleta de amostra sanguínea para dosagem de vitamina D: categórica, incluindo 11 tipos de antirretrovirais (zidovudina (AZT), lamivudina (3TC), TDF, didanosina (DDI), ritonavir (r), lopinavir (LPV), atazanavir (ATV), nevirapina (NVP), EFV, darunavir (DAR) e raltegravir (RAL)) e 17 esquemas (3TC + DDI + ATV, 3TC + TDF + ATV, 3TC + TDF + ATV/r, 3TC + TDF + DAR/r + RAL, 3TC + TDF + EFV, 3TC + TDF + FPV/r, 3TC + TDF + LPV/r, 3TC + TDF + NVP, AZT + 3TC + ATV, AZT + 3TC + ATV/r, AZT + 3TC + EFV, AZT + 3TC + LPV/r, AZT + 3TC + NVP, AZT + 3TC + TDF + ATV/r, AZT + 3TC + TDF + LPV/r, AZT + DDI + ATV/r e sem uso de TARV).
- c) Histórico de uso de diferentes antirretrovirais: contínua, em meses até a data da coleta de amostra sanguínea para dosagem de vitamina D, incluindo os antirretrovirais AZT, 3TC, TDF, ritonavir, LPV, ATV, NVP e EFV.

Status da infecção pelo HIV

- a) Contagem de linfócitos T CD4+: contínua, expressa em número de células/mm³ e categórica, expressa em 4 faixas: 1-100 cel/mm³, 101-350 cel/mm³, 351-500 cel/mm³ e maior que 500 cel/mm³.
- b) Carga viral do HIV: contínua, expressa em log₁₀ do número de cópias virais/mm³ e categórica, expressa nas categorias indetectável e detectável.

Concentração plasmática de VD: contínua, expressa em ng/dL e categorizada em quatro faixas: além de categorizada em <10 ng/dL, 10-19 ng/dL, 20-31 ng/dL, ≥ 32 ng/dL deficientes [VD] < 32 ng/dL e não deficientes (Holick et al., 2009).

4.3. Análise estatística

O banco de dados foi construído e transferido para o programa SPSS 15.0. Na série de casos, foram realizados estudos da associação entre a concentração de VD, considerada variável resposta e as variáveis explanatórias: sexo, idade, tempo de diagnóstico, tempo de tratamento antirretroviral, esquema antirretroviral atual, tempo acumulado de uso dos diferentes antirretrovirais. A correlação entre a concentração de VD e as variáveis: idade, tempo de uso de TARV, tempo de diagnóstico etc. foi realizada por regressão linear simples, obtendo-se coeficientes de correlação/determinação e valores de p. As médias de VD em diferentes categorias foram comparadas através do teste t de Student. O nível de significância estatística em todas as análises foi estipulado em 5%.

4.4. Dosagem plasmática de Vitamina D

O ensaio Liaison para detecção da 25(OH)D é um imunoensaio de competição direta com detecção através do método de quimioluminescência mediante o uso de um aparelho automatizado DiaSorin Liaison. O ensaio utiliza partículas magnéticas (fase sólida) cobertas por anticorpos contra a 25(OH)D.

A primeira fase de incubação leva dez minutos e a 25(OH)D do plasma é dissociada de sua proteína ligadora por um tampão contendo etanol a 10%, podendo então se ligar ao anticorpo da fase sólida. Após esta etapa, realiza-se uma incubação de 10 minutos com o traçador derivado do isoluminol. O resíduo é lavado e os reagentes são adicionados para gerar o sinal quimioluminescente, medido por um fotomultiplicador que é inversamente relacionado à concentração de 25(OH)D (Wagner et al., 2009).

4.5. Contagem de linfócitos T CD4⁺

4.5.1. Metodologia para coleta de material para contagem de linfócitos T CD4⁺

A coleta deve ocorrer sem que haja necessidade de qualquer preparo especial ou jejum. As amostras foram coletadas através de venopunção em tubo com EDTA K3 ou K2, com o cuidado de descartar aquelas amostras totalmente lipêmicas, hemolisadas ou com microcoágulos. As amostras foram coletadas observando o cuidado de não alterar a proporção de volume de sangue frente ao de anticoagulante. As amostras foram conservadas em temperatura ambiente no próprio tubo de coleta, envolto em saco plástico individual, e transportadas para serem processadas em até 24h. A solicitação de exames para contagem de linfócitos TCD4⁺ foi preenchida pelo médico solicitante e autorizador, respeitando rigorosamente o horário e o agendamento feito pelo setor de coleta para a recepção das amostras. A contagem de linfócitos TCD4⁺ é realizada através de citometria de fluxo conforme descrito previamente.

4.6. Contagem de carga viral plasmática do HIV

4.6.1. Coleta de material para quantificação do RNA viral do HIV-1

Não foi realizada qualquer preparação especial ou jejum do paciente para a coleta da amostra para a realização do exame de carga viral plasmática do HIV. O manuseio correto das amostras é imprescindível para proteger o RNA viral do HIV-1 de degradação, devendo-se proceder à coleta do sangue total observando as precauções universais relativas à punção venosa.

Foram coletados dois tubos de 5 ml contendo EDTA por paciente (EDTA K3 ou K2 tampa de cor lilás). O sangue total coletado foi conservado no tubo original antes da centrifugação: por até 6 horas à temperatura ambiente (15° C até 25 ° C); Ou, máximo 24h, entre 2°C a 8°C (geladeira). O material utilizado para os testes de Carga Viral é o plasma.

4.6.2 Preparação e Armazenamento do Plasma

Para obter o plasma sanguíneo, centrifugaram-se os dois tubos de sangue total a 100 – 1300x G (padronizar a força para centrifugação: G, RPM, ou RCF). Em seguida transferiu-se o plasma para tubos de polipropileno, com tampa de rosca (ou em microtubos de polipropileno – tipo eppendorf) livres de enzimas (RNAses ou DNAses), em alíquotas de no mínimo 1100 – 1200 µL com auxílio de uma ponteira com barreiras livres enzimas (RNAses ou DNAses), sem ressuspender as células. O plasma deverá ser conservado e/ ou armazenado por até cinco dias em temperatura entre 2°C a 8° C (geladeira), ou

período superior a cinco dias prolongado ou indeterminado em temperatura entre -60° C a -80° C. Devem ser evitados os múltiplos congelamentos seguidos de descongelamentos. Desta forma, recomenda-se que a amostra seja estocada em alíquotas, com quantidade suficiente para a realização do teste (1100 – 1200 µL), evitando assim o processo de congelamento/descongelamento da amostra.

4.6.3 Técnica

A quantificação da carga viral é realizada através de reação em cadeia da polimerase (PCR, *Polymerase chain reaction*) em tempo real.

5. Parecer do Comitê de ética em Pesquisa

O estudo foi previamente aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Hospital Gaffrée e Guinle – UNIRIO sob o CAAE: 07124312.4.0000.5258 e número do parecer: 111.059.

6. Resultados

Foram incluídos 125 pacientes no estudo, dentre eles 53 mulheres e 72 homens. Foram descritas características deste grupo de pacientes, como idade, contagem de linfócitos T CD4⁺, carga viral do HIV, tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV, tempo de tratamento com os diferentes antirretrovirais, histórico do uso de TARV, TARV atual, além da concentração plasmática de VD.

Do grupo estudado, um total de 91 pacientes (72,8%) apresentaram deficiência de VD, definida por concentração plasmática de VD inferior a 32 ng/dL. O grupo foi classificado categoricamente em deficiência grave, com valores inferiores a 10 ng/dL (5 indivíduos), deficiência moderada, entre 10-19 ng/dL (36 indivíduos), deficiência leve, 20-31 ng/dL (50 indivíduos) e suficiência, maiores ou iguais a 32 ng/dL (34 indivíduos). A Tabela 1 demonstra os dados descritivos de sexo, idade, uso de TARV, faixa de contagem de linfócitos T CD4⁺, status da carga viral, carga viral em faixas logarítmicas e concentração de vitamina D em faixas.

Tabela 1 – Características da amostra de 125 pacientes portadores do HIV estudada no Hospital Universitário Gaffrée e Guinle.

Variável	N = 125	%
Sexo		
Masculino	72	57,6
Feminino	53	42,4
Idade		
18-30 anos	13	10,4
31-45 anos	55	44,0
45-60 anos	49	39,2
>60 anos	8	6,4
Uso de TARV		
Sim	104	83,2
Não	21	16,8
Faixa de CD4⁺		
< 100 cel/mm ³	5	4,0
100-350 cel/mm ³	33	26,4
351- 500 cel/mm ³	33	26,4
> 500 cel/mm ³	54	43,2
Carga Viral		
Detectável	38	30,4
Não detectável	87	69,6
Carga Viral log		
<2	88	70,4
2-3	11	8,8
3,1-4	14	11,2
4,1-5	10	8,0
5,1-6	2	1,6
Concentração de VD		
<10 ng/dL	5	4,0
10-19 ng/dL	36	28,8
20-31 ng/dL	50	40,0
≥32 ng/dL	34	27,2

As variáveis: idade, sexo, tempo de TARV e o tempo de diagnóstico não apresentaram associação estatisticamente significativa com as concentrações plasmáticas de VD no grupo estudado. A Figura 6 demonstra a correlação entre a variável idade e concentração plasmática de VD. Observa-se um coeficiente de correlação (R^2) de 0,001, com $p = 0,795$. As médias de concentração plasmática de VD não foram significativamente diferentes entre pacientes do sexo masculino e feminino ($26,69 \pm 12,72$ ng/dL e $26,36 \pm 11,68$ ng/dL, respectivamente, $p = 0,879$), como demonstrado na Figura 7. Tampouco foi observada uma relação entre o tempo de uso de TARV e a concentração plasmática de VD ($R^2 = 0,008$; $p = 0,316$), como demonstrado na Figura 8. O tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV também não se correlacionou às concentrações plasmáticas de VD através da regressão linear simples ($R^2 = 0,009$; $p = 0,281$) (Figura 9).

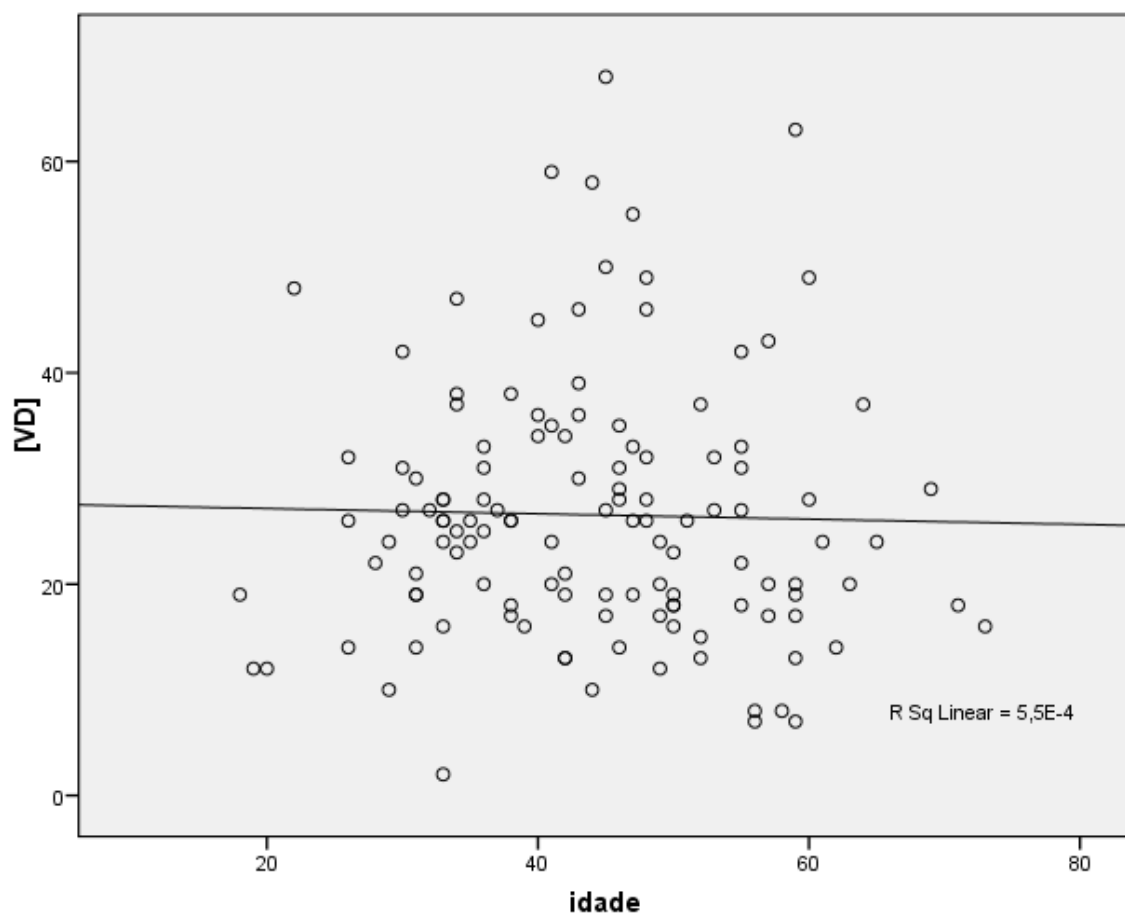


Figura 6 - Correlação entre concentração plasmática de VD (ng/dL) e idade (meses).

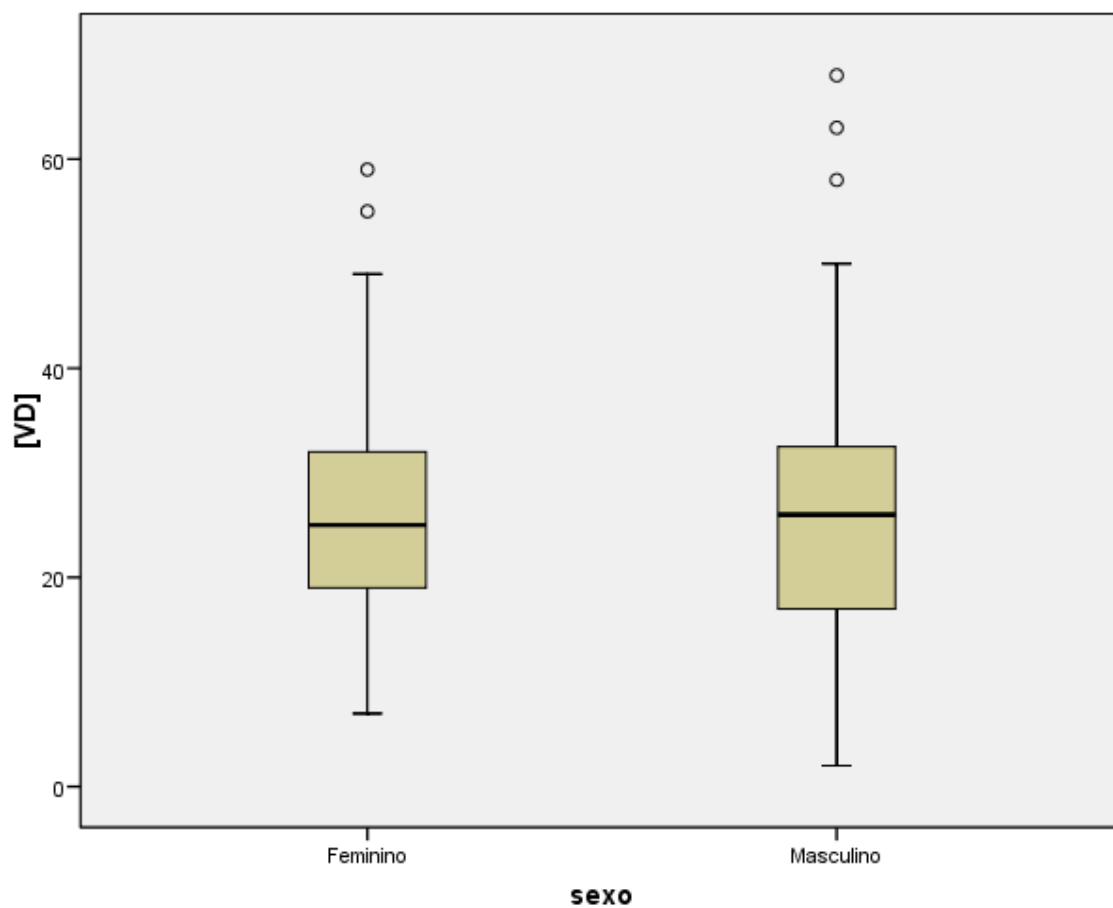


Figura 7 - Médias de concentração plasmática de VD (ng/dL) entre pacientes do sexo feminino e masculino.

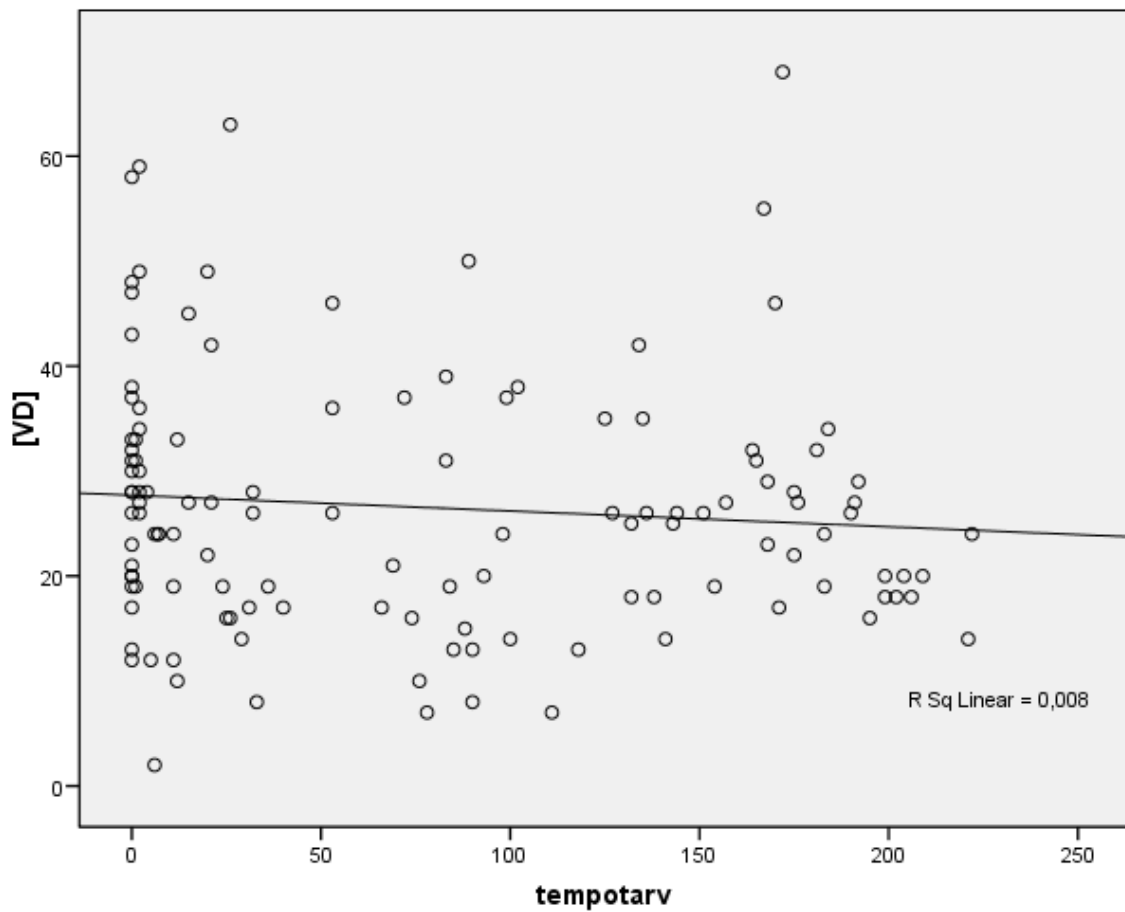


Figura 8 - Correlação entre concentração plasmática de VD (ng/dL) e o tempo acumulado de uso de TARV (meses).

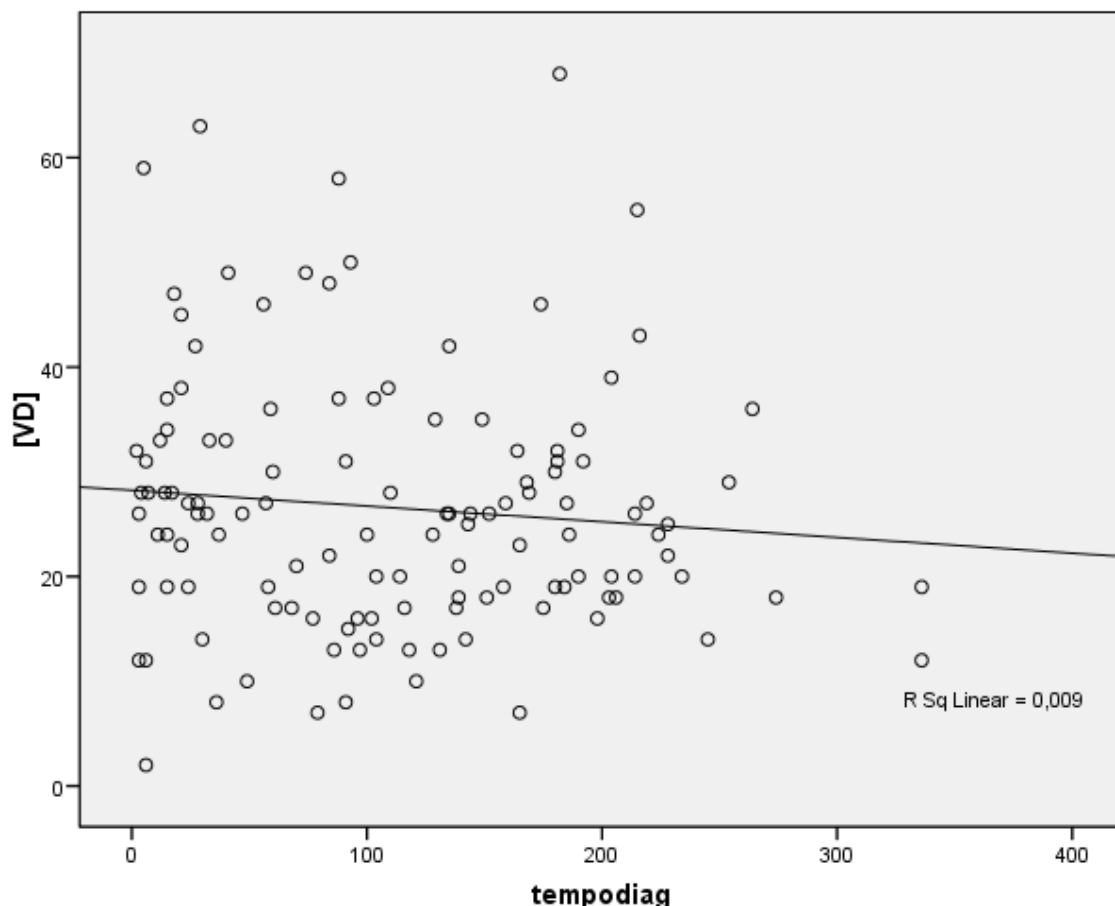


Figura 9 - Correlação entre concentração plasmática de VD (ng/dL) e tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV (meses).

O grau de imunodepressão do grupo de pacientes estudado foi avaliado através da contagem de linfócitos T CD4⁺. Observou-se que a maior parte dos pacientes (n = 54; 43,2%) apresentava contagem maior que 500 células/mm³ e 33 (26,4%) pacientes apresentavam a contagem entre 351 e 500 células/mm³. A Tabela 1 demonstra a distribuição dos pacientes por faixa de contagem de linfócitos T CD4⁺. Observou-se na regressão linear, uma tendência de correlação próxima da significância estatística e inversamente proporcional entre a contagem de linfócitos T CD4⁺ e as concentrações plasmáticas de VD ($R^2 = 0,029$; $p = 0,058$). A regressão linear entre a concentração plasmática de VD e a contagem de linfócitos T CD4⁺ está apresentada na Figura 10.

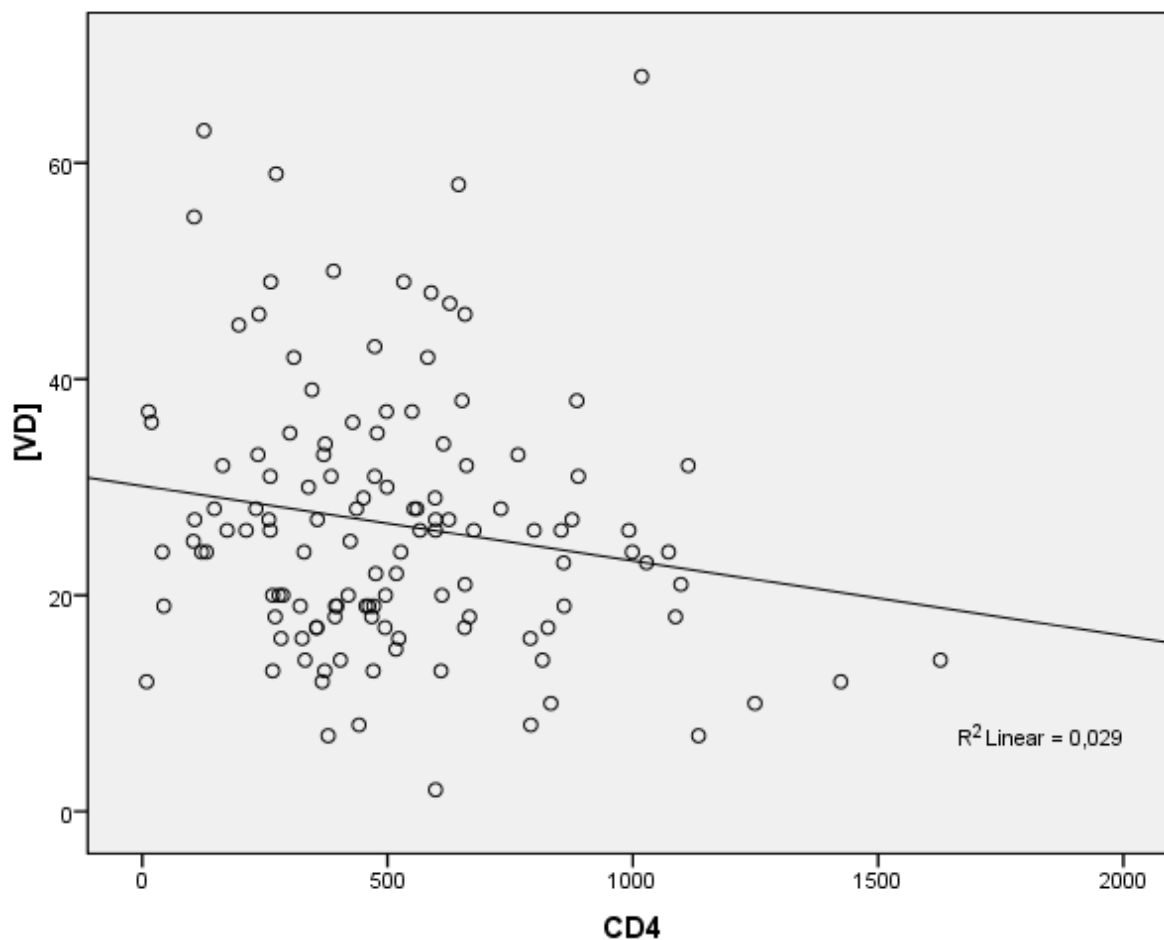


Figura 10 – Correlação entre concentração plasmática de V (ng/dL) e contagem de linfócitos TCD4⁺ (cel/mm³).

As médias de concentração de VD nas faixas de CD4 < 100 cel/mm³; 100-350 cel/mm³; 351- 500 cel/mm³ e > 500 cel/mm³ foram 25,6 ± 10,83; 29,63 ± 13,31; 24,75 ± 10,43 e 26,13 ± 12,85 ng/dL, respectivamente (Figura 11).

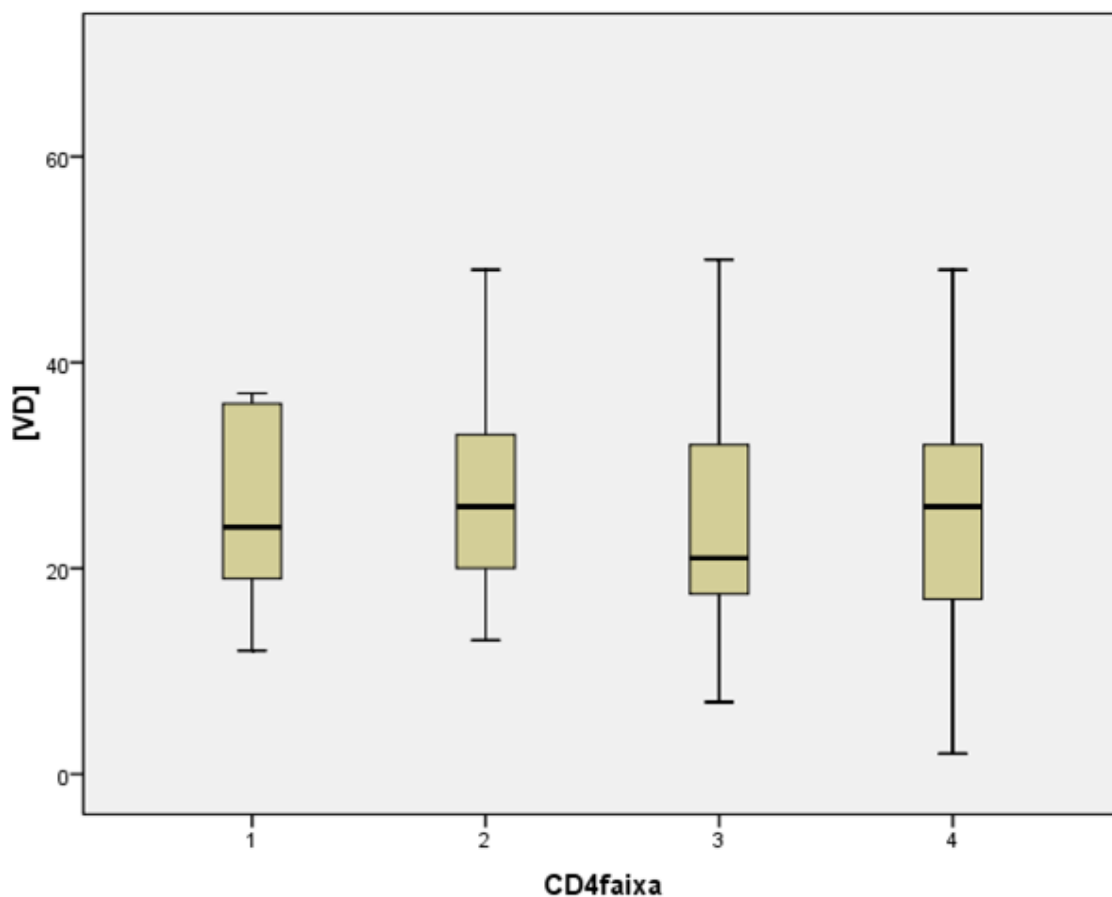


Figura 11 – Comparação entre médias da concentração plasmática de VD (ng/dL) conforme as faixas de contagem de linfócitos TCD4⁺. Faixa 1 (<100 cel/mm³), Faixa 2 (101-350 cel/mm³), Faixa 3 (351-500 cel/mm³) e Faixa 4 (>500cel/mm³).

Avaliou-se também a correlação entre a carga viral do HIV e as concentrações plasmáticas de VD. Para tanto, comparam-se as médias da concentração de VD entre pacientes com carga viral detectável (n=38 pacientes), considerando-se o limite de 40 cópias virais/mm³) e indetectável (n=87 pacientes). As médias de VD nestes grupos foram 29,21 ± 12,18 ng/dL e 25,39 ± 12,12 ng/dL, respectivamente (p = 0,109). Entre os pacientes com carga viral detectável, uma análise de regressão linear buscou identificar a relação entre a carga viral e a concentração de VD, observando-se uma tendência estatisticamente não significativa à redução na concentração de VD proporcional ao aumento do Log da carga viral ($R^2 = 0,053$; p = 0,165), como demonstrado na Figura 12.

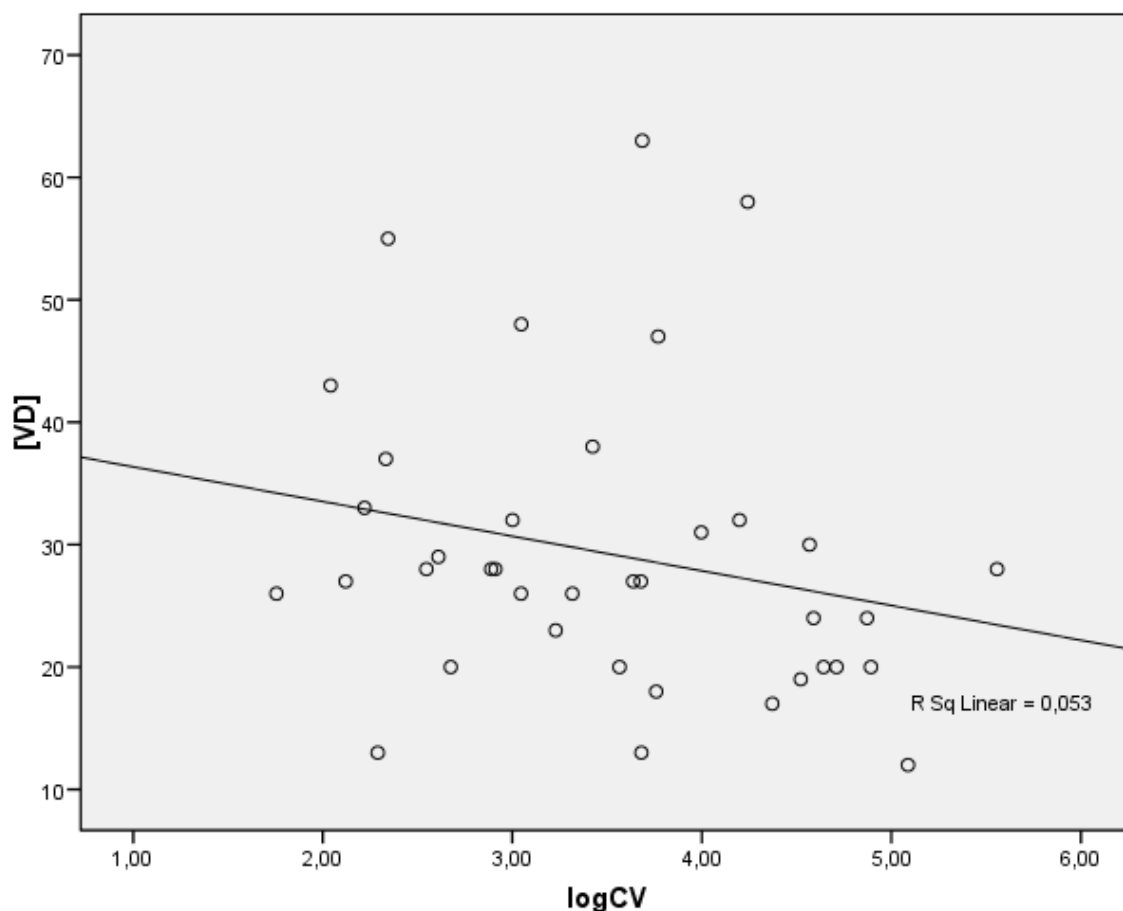


Figura 12 – Correlação entre a concentração plasmática de VD (ng/dL) e o Log da carga viral do HIV.

Em relação ao histórico do uso de TARV não houve diferença significativa entre as médias de VD entre os grupos que já utilizaram a terapia antirretroviral ($n = 104$, média de VD = $25,91 \pm 12,22$ ng/dL) ou eram virgens de tratamento ($n = 21$, média de VD = $29,71 \pm 12,14$ ng/dL), com $p = 0,202$.

Foi avaliada a correlação entre a concentração plasmática de VD e o tempo de uso, cumulativo, em meses, entre os usuários dos diferentes antirretrovirais. A Tabela 2 e a Figura 13 demonstram os resultados destas análises. O tempo de uso dos medicamentos: AZT, 3TC, TDF, r, LPV, ATV e NVP não se correlacionaram significativamente com a concentração plasmática de VD através da regressão linear. O AZT obteve uma tendência de correlação

de deficiência de VD proporcional ao tempo de uso acumulado entre seus usuários. O tempo de uso de EFV, entre os usuários de EFV, correlacionou-se de forma estatisticamente significativa com a concentração plasmática de VD de forma inversamente proporcional ($R^2 = 0,071$ e $p = 0,03$), Figura 14.

Não foi possível avaliar de forma confiável a influência do uso atual de TARV sobre as concentrações plasmáticas de VD, tendo em vista a grande variabilidade de esquemas em comparação ao número da amostra. Os diferentes tipos de TARV atual e as médias de concentração de VD podem ser visualizados na Tabela 3. Quando utilizado o teste T para comparação entre médias entre os usuários de TARV ($VD_{média} = 25,91 \pm 12,226$) e os virgens de tratamento ($VD_{média} = 29,71 \pm 12,141$), não foi encontrada diferença estatisticamente significativa ($p = 0,2$).

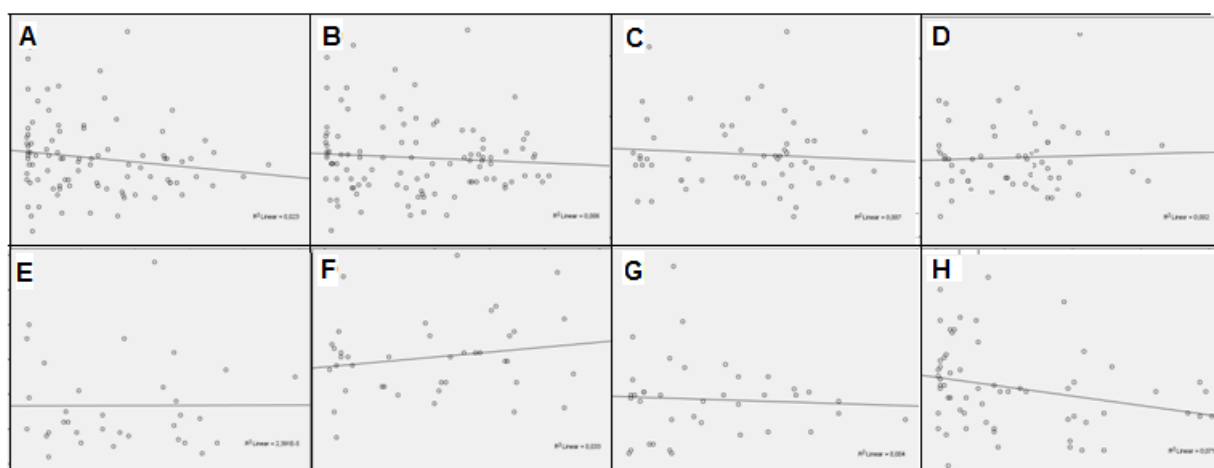


Figura 13 – Regressão linear realizada entre a concentração plasmática de VD (ng/dL) e o tempo de uso acumulado de cada antirretroviral individualmente (meses). A (AZT), B (3TC), C (TDF), D (r), E (LPV), F (ATV), G (NVP), H (EFV).

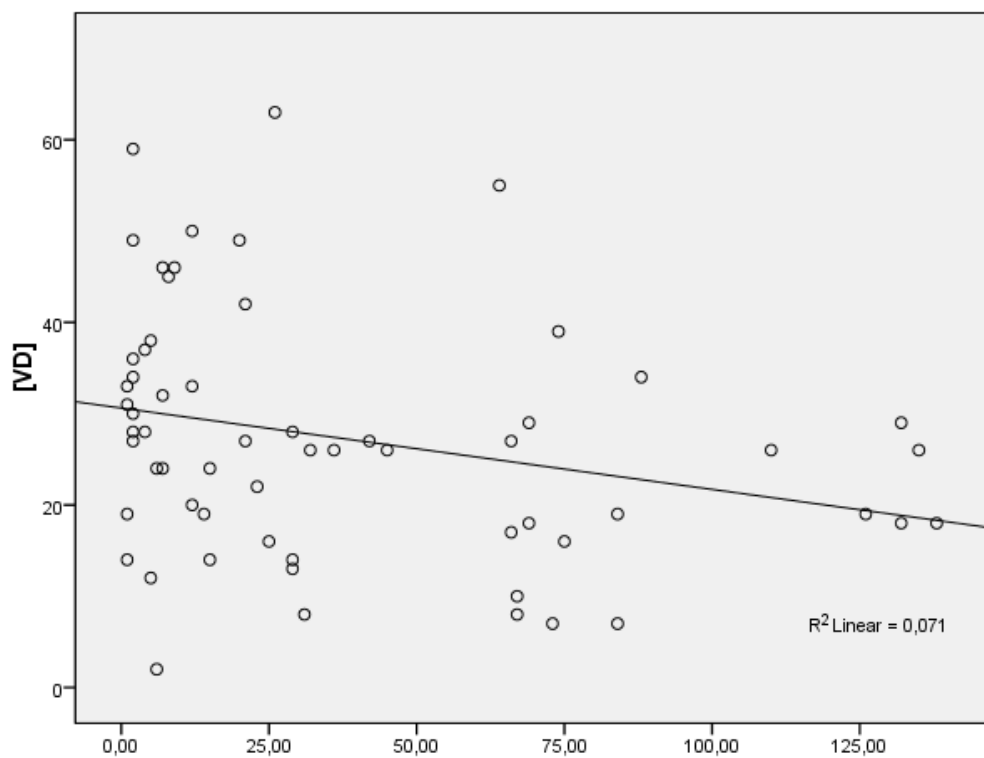


Figura 14 – Regressão linear realizada entre a concentração plasmática de VD (ng/dL) e o tempo de uso acumulado de EFV (meses).

Tabela 2 - Correlação entre a concentração plasmática de VD (ng/dL) e o tempo de cumulativo de uso dos diferentes antirretrovirais (meses).

Antirretroviral	β	R^2	p
AZT	-0,034	0,023	0,148
3TC	-0,015	0,006	0,441
TDF	-0,033	0,007	0,557
r	0,013	0,002	0,723
LPV	0,002	0,000	0,978
ATV	0,049	0,033	0,260
NVP	-0,019	0,004	0,718
EFV*	-0,089	0,071	0,037*

Tabela 3 – Distribuição dos diferentes TARV e médias de concentração plasmática de VD (ng/dL)

Esquema	Média de VD	N	Desvio padrão
3TC + DDI + ATV	31,00	1	-
3TC + TDF + ATV	36,50	2	13,435
3TC + TDF + ATV/r	28,77	22	8,513
3TC + TDF + DRV/r + RAL	35,67	3	28,006
3TC + TDF + EFV	26,75	8	17,702
3TC + TDF + FPV/r	24,50	2	6,364
3TC + TDF + LPV/r	23,50	8	10,850
3TC + TDF + NVP	17,33	3	7,024
AZT + 3TC + ATV	16,00	2	1,414
AZT + 3TC + ATV/r	19,33	3	6,028
AZT + 3TC + EFV	26,31	26	13,120
AZT + 3TC + LPV/r	21,60	5	7,893
AZT + 3TC + NVP	22,70	10	15,210
AZT + 3TC + TDF + ATV/r	26,00	2	8,485
AZT + 3TC + TDF + LPV/r	28,83	6	9,745
AZT + DDI + ATV/r	14,00	1	-
Sem TARV	29,71	21	12,141
Total	26,55	125	12,246

7. Discussão

A deficiência de VD é uma condição subdiagnosticada, raramente sendo alvo de investigação laboratorial por parte dos clínicos. As consequências da deficiência subclínica deste nutriente cada vez mais tem sido motivo de investigação dos estudos científicos, assim como interações medicamentosas que possam agravar estas condições.

Estima-se que em torno de 36% dos adultos saudáveis e 57% dos pacientes internados nos EUA apresentem algum grau de deficiência de VD. Estudos holandeses, americanos, noruegueses, italianos e espanhóis, assim como o grande estudo EuroSIDA, apontam uma prevalência de deficiência de VD entre os portadores do HIV em torno de 60-80% (Seminari et al., 2005, Stephensen et al., 2006, Aparicio et al., 2006, Van Den Bout-Van Den Beukel et al., 2008, Rodríguez et al., 2009, Viard et al., 2011)

O estudo apresentado trata-se de uma análise transversal em que ocorrem limitações quanto à determinação de uma relação causal por não haver temporalidade e esta sujeito à vieses de prevalência. O corte único no tempo permite apenas descrição entre associações entre variáveis.

A prevalência da deficiência de VD entre os pacientes portadores do HIV atendidos no ambulatório de Imunologia do HUGG, estabelecida pela concentração inferior a 32ng/dL, foi de 72,8%. Este valor é consistente com os trabalhos realizados em outros países, inclusive com climas temperados, em contraposição ao clima do Estado do Rio de Janeiro que é tropical. Tal elemento sugere um fortalecimento do raciocínio de que a presença de um

clima tropical não atua de forma robusta protegendo a população da deficiência de VD.

A variável idade, sexo, tempo de TARV e o tempo de diagnóstico não apresentaram associação estatisticamente significativa com a deficiência de VD no grupo estudado. Não há evidências científicas robustas e nem plausibilidade biológica que tornaria a idade e o sexo fatores associados fortemente à deficiência de VD. Mais especificamente sobre o tempo de diagnóstico, devemos levar em consideração que o diagnóstico pode ser realizado em diferentes fases da doença, não significando necessariamente tempo de infecção. Além disso, há uma variabilidade em termos de velocidade de progressão para a imunossupressão grave entre os indivíduos que tornam a variável tempo de diagnóstico repleto de fatores de confundimentos. O resultado da análise associativa entre concentração plasmática de VD e tempo total de TARV pode ser afetado pelo fato de que, a maioria dos esquemas, são formados por 3 ou 4 medicamentos diferentes e não necessariamente são mantidos os mesmos medicamentos e esquemas durante todo o histórico do tratamento da doença. Abandonos de tratamento, má adesão e exposições por periodicidades diferentes com diferentes esquemas tornam esta variável passível de confundimentos.

Da mesma forma, a análise da associação de deficiência de VD pela contagem de linfócitos T CD4⁺, que expressa o grau de imunossupressão, pode ser afetada pelo fato de o TARV ser iniciado em contagens de linfócitos T CD4⁺ baixas, atualmente no Brasil < 500 cel/mm³ e antigamente < 350 cel/mm³, ou seja, nos pacientes com contagens elevadas de linfócitos T CD4⁺ estariam inclusos virgens de tratamento e usuários crônicos de TARV com boa adesão e

diferentes tempos acumulados e experimentações com diferentes esquemas. Aqueles que apresentam imunossupressão mais grave concentrariam principalmente indivíduos com diagnóstico recente e em início de TARV ou indivíduos com diagnóstico prévio com falha virológica e clínica ou pouca adesão ao tratamento. Estes fatores tornam complexa a avaliação da deficiência de VD pela contagem de linfócitos T CD4⁺. Foi encontrada uma tendência de correlação entre a contagem de linfócitos T CD4⁺ e concentração plasmática de VD de maneira inversamente proporcional. Tal achado pode refletir um uso prolongado e eficaz de TARV, principalmente com esquemas atuais ou prévios envolvendo o EFV, entre os pacientes com maior contagem de linfócitos T CD4⁺ o que levaria a uma redução na concentração plasmática de VD.

Outro parâmetro de avaliação seria a análise entre os grupos carga viral detectável ou indetectável e deficiência de VD. Esta análise pode ser afetada pelo fato do grupo indetectável, em sua maioria, estar utilizando TARV e ter diferente tempo de tratamento acumulado e diferente histórico de TARV prévio. O grupo detectável é composto por virgens de tratamento e pacientes em uso de TARV com falha terapêutica ou baixa adesão. Quando foi analisado por regressão linear, o Log da carga viral entre os detectáveis e o grau de deficiência de VD, notou-se uma tendência inversamente proporcional, ou seja, quanto maior a carga viral menor a concentração de VD, mas de maneira não estatisticamente significativa. Possivelmente o *fitness* viral agrava um estado inflamatório do organismo que pode influenciar negativamente a concentração plasmática de VD. Como já citado no texto, em um modelo experimental, a presença da proteína gp120 do HIV aumentou a expressão macrofágica da

CYP27B1, o que em tese, poderia reduzir a concentração plasmática de 25(OH)D. Não podemos descartar a influência de esquemas anteriores, principalmente envolvendo o EFV entre pacientes com alta carga viral em decorrência de abandono de tratamento ou falha virológica.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias de concentração de VD quando comparados pacientes experimentados com TARV ou virgens de tratamento, podendo ser consequência do fato de usuários de TARV utilizarem uma grande variabilidade de esquemas e medicamentos, tanto atuais como prévios, que poderiam atuar de formas diferentes sobre as concentrações de VD.

A correlação estatisticamente significativa do tempo prévio de uso de EFV e a concentração plasmática de VD é um resultado que reforça a teoria de que o EFV seja o medicamento antirretroviral com maior associação à deficiência de VD. Este estudo sugere que a influência do uso do EFV reduzindo a concentração plasmática de VD seja tempo dependente. Os estudos que levam em consideração o tempo de uso acumulado de terapia antirretroviral e deficiência de VD são escassos. Segundo a literatura atual, o EFV suprime a CYP2R1, o que tem sido sugerido como motivo para redução da concentração de 25(OH)D. Por outro lado o EFV induz a CYP3A4 o que poderia compensar a supressão da CYP2R1 aumentando a concentração de 25(OH)D. Atualmente, o papel da CYP3A4 como atividade 25-hidroxilase tem sido visto como secundário, o que poderia explicar uma predominância no efeito depletor de 25(OH)D da supressão da CYP2R1 pelo EFV. Os impactos clínicos desta influência do EFV na concentração de 25(OH)D são indeterminados.

Estudos como o EuroSIDA apontaram os IPs como possíveis geradores de deficiência de VD, o que não vem sendo consistente com a maioria dos trabalhos publicados e também com a nossa avaliação.

8. Conclusões

A prevalência de deficiência de VD na população estudada foi de 72,8%, definida por concentração plasmática de VD inferior a 32 ng/dL.

As variáveis: idade, sexo, tempo de TARV e o tempo de diagnóstico não apresentaram associação estatisticamente significativa com as concentrações plasmáticas de VD no grupo estudado.

Observou-se uma tendência de correlação, próxima da significância estatística, entre a contagem de linfócitos T CD4⁺ e as concentrações plasmáticas de VD de maneira inversamente proporcional ($R^2 = 0,029$; $p = 0,058$).

Entre os pacientes com carga viral detectável, observou-se uma tendência estatisticamente não significativa à redução na concentração de VD proporcional ao aumento do Log da carga viral ($R^2 = 0,053$; $p = 0,165$).

Em relação ao histórico do uso de TARV não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias de VD entre os grupos que já utilizaram a terapia antirretroviral ou eram virgens de tratamento.

O tempo de uso acumulado dos medicamentos AZT, 3TC, TDF, ritonavir, LPV, ATV e NVP não se correlacionaram significativamente com a concentração plasmática de VD.

O tempo de uso acumulado de EFV se correlacionou de forma estatisticamente significativa e inversamente proporcional à concentração de VD ($R^2 = 0,071$ e $p = 0,03$).

Não foi possível avaliar de forma confiável a influência do uso atual de TARV sobre as concentrações plasmáticas de VD, tendo em vista a grande variabilidade de esquemas em comparação ao número da amostra.

9. Referências Bibliográficas

Ahonen MH, Tenkanen L, Teppo L, Hakama M, Tuohimaa P. Prostate cancer risk and prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D levels (Finland). *Cancer Causes Control*. 2000; 11(9): 847–52.

Allavena C, Delpierre C, Cuzin L, Rey D, Viget N, Bernanrd J, et al. High frequency of vitamin D deficiency in HIV-infected patients: effects of HIV-related factors and antiretroviral drugs. *J. Antimicrob. Chemother*. 2012; 67 (9): 2222-30.

Andersson SO, Wolk A, Bergstrom R, et al. Energy, nutrient intake and prostate cancer risk: a population-based case-control study in Sweden. *Int J Cancer*. 1996; 68(6):716–22.

Andersson SO, Yuen J, Adami HO, Wolk A. Dairy products, calcium, phosphorous, vitamin D, and risk of prostate cancer (Sweden). *Cancer Causes Control*. 1998; 9(6): 559–66.

Aparicio AMG, Fernández SM, González J, Arribas JR, Peña JM, Vázquez JJ, et al. Abnormalities in the bone mineral metabolism in HIV-infected patients. *Clin Rheumatol*. 2006; 25:537-9.

Balsan S, Garabedian M, Larchet M, et al. Long-term nocturnal calcium infusions can cure rickets and promote normal mineralization in hereditary resistance to 1,25 dihydroxyvitamin D. *J Clin invest*. 1986; 77:1661-7.

Bearden A, Abad C, Gangnon R, Sosman JM, Binkleu N, Safdar N. Cross-Sectional Study of Vitamin D Levels, Immunologic and Virologic Outcomes in HIV-Infected Adults. 2013; 98 (4): 1726.

Bhalla AK, Amento EP, Clemens TL, Holick MF, Krane SM. Specific high-affinity receptors for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in human peripheral blood mononuclear cells: presence in monocytes and induction in T lymphocytes following activation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983; 57: 1308–10.

Bikle DD, Gee E, Halloran B. et al. Assessment of the free fraction of 25-hydroxyvitamin D in serum and its regulation by albumin and the vitamin D binding protein. *J Clin Endocrinol Metab.* 1986; 63 954-9.

Bikle DD, Siiteri PK, Ryzen E, Haddad JG. Serum protein binding of 1,25-dihydroxyvitamin D: A reevaluation by direct measurement of free metabolite levels. *J Clin Endocrinol metab.* 1985; 61:969-75.

Blazer DG 3rd, Umbach DM, Bostick RM, Taylor JA. Vitamin D receptor polymorphisms and prostate cancer. *Mol Carcinog.* 2000; 27(1):18–23.

Bostick RM, Potter JD, Sellers TA, McKenzie DR, Kushi LH, Folsom AR. Relation of calcium, vitamin D, and dairy food intake to incidence of colon cancer among older women. The Iowa Women's Health Study. *Am J Epidemiol.* 1993; 137(12):1302–17.

Braun MM, Helzlsouer KJ, Hollis BW, Comstock GW. Prostate cancer and prediagnostic levels of serum vitamin D metabolites (Maryland, United States). *Cancer Causes Control.* 1995; 6(3): 235–9.

Brenner B, Russell N, Albrecht S, Davies R. The effect of dietary vitamin D₃ on the intracellular calcium gradient in mammalian colonic crypts. *Cancer Lett.* 1998; 12(7):43–53.

Bretherton-Watt D, Given-Wilson R, Mansi JL, Thomas V, Carter N, Colston KW. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with

breast cancer risk in a UK Caucasian population. *Br J Cancer*. 2001; 85(2):171–5.

Campbell MJ, Reddy GS, Koeffler HP. Vitamin D3 analogs and their 24-oxo metabolites equally inhibit clonal proliferation of a variety of cancer cells but have differing molecular effects. *J Cell Biochem*. 1997; 66(3):413–25.

Cantorna MT, Hulet DA, Redaelli C, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 prolongs graft survival without compromising host resistance to infection or bone mineral density. *Transplantation*. 1998; 66:828–31.

Cantorna MT, Munsick C, Bemiss C, Mahon BD. 1,25-Dihydroxycholecalciferol prevents and ameliorates symptoms of experimental murine inflammatory bowel disease. *J Nutr*. 2000; 130:2648–52.

Cantorna MT, Zhu Y, Froicu M, Wittke A. Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D3, and the immune system. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80:1717S–20S.

Cantorna MT. Vitamin D and its role in immunology: multiple sclerosis and inflammatory bowel disease. *Prog Biophys Mol Biol*. 2006; 92:60–4.

Cazanave C; Dupon M; Lavignolle-Aurillac V; Barthe N, et al. Reduced bone mineral density in HIV-infected patients: prevalence and associated factors. *AIDS*. 2008; 22(3):395-402.

Chan JM, Pietinen P, Virtanen M, et al. Diet and prostate cancer risk in a cohort of smokers, with a specific focus on calcium and phosphorus (Finland). *Cancer Causes Control*. 2000; 11(9): 859–67.

Chawla A, Repa JJ, Evans RM, Mangelsdorf DJ. Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files. *Science*. 2001; 294:1866–70.

Conesa-Botella A, Mathieu C, Colebunders R, Moreno-Reyes R, Lynen EEL, Kestens L. Is vitamin D deficiency involved in the immune reconstitution inflammatory syndrome? *AIDS Research and Therapy*. 2009; 6:4.

Conrado T; Miranda-Filho DB; Bandeira F. Vitamin D deficiency in HIV-infected individuals: one more risk factor for bone loss and cardiovascular disease? *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2010; 54(2):118-22.

Corder EH, Guess HA, Hulka BS, et al. Vitamin D and prostate cancer: a prediagnostic study with stored sera. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1993; 2(5):467–72.

Crutchley RD, Gathe J, Mayberry C, Trieu A, Abughosh S, Garey KW. Risk Factors for Vitamin D Deficiency in HIV-Infected Patients in the South Central United States. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2012; 28(5): 454-459.

Dao CN, Patel P, Overton ET, Rhame F, Pals SL, Johnson C, 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(3): 396-405.

Davis CD, Milner JA. Nutrigenomics, vitamin D and cancer prevention. *J. Nutrigenet Nutrigenomics*. 2011; 4(1):1-11.

Dilworth FJ, Chambon P. Nuclear receptors coordinate the activities of chromatin remodeling complexes and coactivators to facilitate initiation of transcription. *Oncogene*. 2001, 20:3047–54.

Ellfolk M, Norlin M, Gyllensten K, Wikvall K. Regulation of human vitamin D(3) 25-hydroxylases in dermal fibroblasts and prostate cancer LNCaP cells. *Mol Pharmacol* 2009; 75:1392–9.

Fabri M, Stenger S, Shin DM, Yuk JM, Liu PT, Realegeno S, et al. Vitamin D Is Required for IFN- γ -Mediated Antimicrobial Activity of Human Macrophages. *Sci. Transl. Med.* 2011; 3(104):104ra102.

Ford ES, Ajani UA, Mcguire LC, Liu S. Concentrations of serum vitamin D and the metabolic syndrome among U.S. adults. *Diabetes Care.* 2005; 28:1228-30

Freedman D, Dosemeci M, McGlynn K. Sunlight and mortality from breast, ovarian, colon, prostate, and nonmelanoma skin cancer: a composite death certificate based case-control study. *Occup Environ Med.* 2002; 59: 257–62.

French AL, Adeyemi OM, Agniel DM, Evans CT, Yin MT, Anastos K, et al. The Association of HIV Status with Bacterial Vaginosis and Vitamin D in the United States. *Journal of Women's Health.* 2011; 20(10):1497-503.

Froicu M, Weaver V, Wynn TA, McDowell MA, Welsh JE, Cantorna MT. A crucial role for the vitamin D receptor in experimental inflammatory bowel diseases. *Mol Endocrinol.* 2003; 17:2386 –92.

Fu GK, Lin D, Zang MYH, Bikle DD, Shackleton CHL, Miller WL, et al. Cloning of human 25-hydroxyvitamin D 1 α -hydroxylase and mutations causing vitamin D-dependent rickets type 1. *Mol Endocrinol.* 1997; 11(13):1961-70.

Gann P, Ma J, Hennekens C, et al. Circulating vitamin D metabolites in relation to subsequent development of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1996; 5(2):121–6.

Garland C, Garland F. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int J Epidemiol*. 1980; 9: 227–31.

Garland CF, Garland FC, Gorham ED, Lipkin M, Newmark H, Mohr SB, et al. The Role of Vitamin D in Cancer Prevention. *American Journal of Public Health*. 2006; 96(2):252-61.

Garland CF, Garland FC, Gorham ED. Sunlight, sulfur dioxide and breast and colon cancer in Italy, in: *Annual Meeting of the American Association for the Advancement of Science, 1992 (Abstract)*.

Garland F, Garland C, Gorham E, Young J Jr. Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: a hypothesis involving exposure to solar radiation. *Prev Med*. 1990; 19: 614–22.

Gibney KB, MacGregor L, Leder K, Torresi J, Marshall C, Ebeling PR, et al. Vitamin D Deficiency Is Associated with Tuberculosis and Latent Tuberculosis Infection in Immigrants from Sub-Saharan Africa. *Clin Infect Dis*. 2008; 46(3): 443-6.

Giovannucci E, Liu Y, Hollis BW, Rimm EB. 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men. A prospective study. *Arch Intern Med*. 2008; 168:1174-80.

Giovannucci E, Rimm EB, Wolk A, et al. Calcium and fructose intake in relation to risk of prostate cancer. *Cancer Res*. 1998; 58(3):442–7.

Glass CK, Rosenfeld MG. The coregulator exchange in transcriptional functions of nuclear receptors. *Genes Dev*. 2000, 14:121–41.

Gorham E, Garland C, Garland F. Acid haze air pollution and breast and colon cancer in 20 Canadian cities. *Can J Public Health*. 1989; 80:96–100.

Gorham ED, Garland FC, Garland CF. Sunlight and breast cancer incidence in the USSR. *Int J Epidemiol*. 1990; 19(4):820–4.

Grant WB. A multicountry ecologic study of risk and risk reduction factors for prostate cancer mortality. *Eur Urol*. 2004; 45(3):271–9.

Grant WB. An ecologic study of dietary and solar ultraviolet-B links to breast carcinoma mortality rates. *Cancer*. 2002; 94(1):272–81.

Grant WB. An estimate of premature cancer mortality in the US because of inadequate doses of solar ultraviolet-B radiation. *Cancer*. 2002; 94(6): 1867–75.

Grant WB. Ecologic studies of solar UV-B radiation and cancer mortality rates. *Recent Results Cancer Res*. 2003; 164:371–7.

Grant WB. Geographic variation of prostate cancer mortality rates in the United States: implications for prostate cancer risk related to vitamin D. *Int J Cancer*. 2004; 111(3):470–1.

Guy M, Lowe LC, Bretherton-Watt D, Mansi JL, Colston KW. Approaches to evaluating the association of vitamin D receptor gene polymorphisms with breast cancer risk. *Recent Results Cancer Res*. 2003; 164:43–54.

Habuchi T, Suzuki T, Sasaki R, et al. Association of vitamin D receptor gene polymorphism with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in a Japanese population. *Cancer Res*. 2000; 60(2):305–8.

Hammond E, McKinnon E, Glendenning P, Williams R, Mallal S, Phillips E. Association between 25-OH vitamin D and insulin is independent of lipotrophy in HIV. *Clinical Endocrinology*. 2012; 76(2):201-206.

Hanchette CL, Schwartz GG. Geographic patterns of prostate cancer mortality. Evidence for a protective effect of ultraviolet radiation. *Cancer*. 1992; 70(12):2861–9.

Hansen CM, Binderup L, Hamberg KJ, Carlberg C. Vitamin D and cancer: effects of 1,25(OH)₂D₃ and its analogs on growth control and tumorigenesis. *Front Biosci*. 2001; 6:D820–D848.

Harrison JR, Petersen DN, Lichtler AC, et al. 1,25 dihydroxyvitamin D₃ inhibits transcription of type 1 collagen genes in the rat osteosarcoma line ROS 12/2.8. *Endocrinology*. 1989; 125:327-33.

Haug C, Muller F, Aukrust P, Froland SS. Subnormal serum concentration of 1,25-vitamin D in human immunodeficiency virus infection: correlation with degree of immune deficiency and survival. *J Infect Dis* 1994; 169: 889–93.

Hiatt R, Krieger N, Lobaugh B, Drezner M, Vogelmann J, Orentreich N. Prediagnostic serum vitamin D and breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1998; 90(6):461–3.

Hoenderop JG, van der Kemp AWCM, Hartog A, et al. Molecular identification of the Apical Ca²⁺ channel in 1,25-dihydroxyvitamin D₃ responsive epithelia. *J Biol Chem*. 1999; 274(13):8375-8.

Holick M, Matsuoka LY, Wortsman J. Age, vitamin D, and solar ultraviolet radiation. *Lancet*. 1989; 4:1104-5.

Holick MF, MacLaughlin JA, Clark MB, et al. Photosynthesis of previtamin D₃ in human skin and the physiologic consequences. *Science*. 1980; 210:203-5.

Holick MF, Shao Q, Liu WW, Chen TC. The vitamin D content of fortified milk and infant formula. *N Engl J Med.* 1992; 326:1178-81.

Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc.* 2006; 81(3):353-73.

Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest.* 2006; 116:2062-72.

Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007; 357:266–81.

Holick MF. Vitamin D: its role in cancer prevention and treatment. *Prog Biophys Mol Biol.* 2006; 92:49-59.

Iseki K, Tatsuta M, Uehara H, et al. Inhibition of angiogenesis as a mechanism for inhibition by 1 α hydroxyvitamin D₃ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ of colon carcinogenesis induced by azoxymethane in Wistar rats. *Int J Cancer.* 1999; 81(5):730–3.

Janowsky EC, Lester GE, Weinberg CR, et al. Association between low levels of 1,25-dihydroxyvitamin D and breast cancer risk. *Public Health Nutr.* 1999; 2(3):283–91.

Jarvinen R, Knekt P, Hakulinen T, Aromaa A. Prospective study on milk products, calcium and cancers of the colon and rectum. *Eur J Clin Nutr.* 2001; 55:1000–7.

John EM, Dreon DM, Koo J, Schwartz GG. Residential sunlight exposure is associated with a decreased risk of prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004; 89–90(1–5):549–52.

Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. *The Journal of Lipid Research.* 2013 [Epub ahead of print].

Jones S, Restrepo D, Kasowitz A, Korenstein D, Wallenstein S, Schneider A, Keller MJ. Risk factors for decreased bone density and effects of HIV on bone in the elderly. *Osteoporosis International*. 2008; 19(7):913-8.

Kampman E, Giovannucci E, Van 't Veer P, et al. Calcium, vitamin D, dairy foods, and the occurrence of colorectal adenomas among men and women in two prospective studies. *Am J Epidemiol*. 1994; 139(1):16–29.

Kibel AS, Isaacs SD, Isaacs WB, Bova GS. Vitamin D receptor polymorphisms and lethal prostate cancer. *J Urol*. 1998; 160(4):1405–9.

Kim JH, Gandhi V, Pseudos G, Espinoza F, Park J, Sharp V. Evaluation of Vitamin D Levels Among HIV-Infected Patients in New York City. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2012, 28(3): 235-241.

Kristal AR, Cohen JH, Qu P, Stanford JL. Associations of energy, fat, calcium, and vitamin D with prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002; 11(8):719–25.

Lefkowitz ES, Garland CF. Sunlight, vitamin D, and ovarian cancer mortality rates in US women. *Int J Epidemiol*. 1994; 23(6):1133–6.

Li YC, Amling M, Pirro AE, et al. Normalization of mineral ion homeostasis by dietary means prevents hyperparathyroidism, rickets, and osteomalacia, but not alopecia in vitamin D receptor-ablated mice. *Endocrinology*. 1998; 139(10):4391-6

Lin R., White JH. The pleiotropic actions of vitamin D. *BioEssays*. 2004; 26:21–8.

Liu PT, Stenger S, Tang DH, Modlin RL. Cutting edge: vitamin D mediated human antimicrobial activity against *Mycobacterium tuberculosis* is dependent on the induction of cathelicidin. *J Immunol*. 2007; 179: 2060–3.

Lundin AC, Soderkvist P, Eriksson B, Bergman-Jungstrom M, Wingren S. Association of breast cancer progression with a vitamin D receptor gene polymorphism. South-East Sweden Breast Cancer Group. *Cancer Res.* 1999; 59(10): 2332–4.

Luscombe CJ, Fryer AA, French ME, et al. Exposure to ultraviolet radiation: association with susceptibility and age at presentation with prostate cancer. *Lancet.* 2001; 358(9282):641–2.

Ma J, Stampfer MJ, Gann PH, et al. Vitamin D receptor polymorphisms, circulating vitamin D metabolites, and risk of prostate cancer in United States physicians. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998; 7(5):385–90.

Majewski S, Skopinska M, Marczak M, Szmurlo A, Bollag W, Jablonska S. Vitamin D₃ is a potent inhibitor of tumor cell-induced angiogenesis. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 1996; 1(1):97–101.

Mantell DJ, Owens PE, Bundred NJ, Mawer EB, Canfield AE. 1 alpha 25-dihydroxyvitamin D(3) inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Circ Res.* 2000; 87(3): 214–20.

Marcus PM, Newcomb PA. The association of calcium and vitamin D, and colon and rectal cancer in Wisconsin women. *Int J Epidemiol.* 1998; 27(5): 788–93.

Martineau AR, Honecker FU, Wilkinson RJ, Griffiths CJ. Vitamin D in the treatment of pulmonary tuberculosis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2007; 103:793–8.

Martineau AR, Wilkinson KA, Newton SM, Floto RA, Norman AW, Skolimowska K, Davidson RN, Sorensen OE, Kampmann B, Griffiths CJ, et al.

IFN-gamma- and TNF-independent vitamin D-inducible human suppression of mycobacteria: the role of cathelicidin LL-37. *J Immunol.* 2007; 178:7190–8.

Mathiasen IS, Sergeev IN, Bastholm L, Elling F, Norman AW, Jaattela M. Calcium and calpain as key mediators of apoptosis-like death induced by vitamin D compounds in breast cancer cells. *J Biol Chem.* 2002; 277(34):30738–45.

Mathieu C, Badenhoop K. Vitamin D and type 1 diabetes mellitus: state of the art. *Trends Endocrinol Metab.* 2005; 16:261-6.

McComsey GA, Tebas P, Shane E, Yin MT, et al. Bone Disease in HIV Infection: A Practical Review and Recommendations for HIV Care Providers. *Clin Infect Dis.* 2010; 51(8): 937-46.

McComsey, Grace Aa; Kendall, Michelle Ab; Tebas, Pabloc Alendronate with calcium and vitamin D supplementation is safe and effective for the treatment of decreased bone mineral density in HIV. *AIDS.* 2007; 21(18):2473-82.

McKenna NJ, O'Malley BW. Combinatorial control of gene expression by nuclear receptors and coregulators. *Cell.* 2002; 108:465–74.

Mehta S, Giovannucci E, Mugusi FM, Spiegelman D, Aboud S, et al. Vitamin D Status of HIV-Infected Women and Its Association with HIV Disease Progression, Anemia, and Mortality. *PLoS ONE.* 2010; 5(1): e8770.

Mehta S, Hunter DJ, Nugusi FM, Spiegelman D, Manji KP, et al. Outcomes, Including Mother-to-Child Transmission of HIV, and Child Mortality and Their Association with Maternal Vitamin D Status in Tanzania. *J Infect Dis.* 2009; 200(7):1022-30.

Mehta S, Mugusi FM, Spiegelman D, Villamor E, Finkelstein JL, et al. Vitamin D Status and its Association with Morbidity Including Wasting and Opportunistic Illnesses in HIV-Infected Women in Tanzania. *AIDS Patient Care and STDs*. 2011; 25(10):579-85.

Melamed ML, Michos ED, Post W, Brad A. 25-hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Arch Intern Med*. 2008; 168:1629-37.

Mizoue T. Ecological studies of solar radiation and cancer mortality in Japan. *Health Phys*. 2004; 87(5): 532–8.

Nansera, D.; Graziano, F.M.; Friedman, D.J.; Bobbs, M.K.; Jones, A.N.; Hansen, K.E. Vitamin D and calcium levels in Ugandan adults with human immunodeficiency virus and tuberculosis. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2011; 15(11):1522-1527.

Nomura AM, Stemmermann GN, Lee J, et al. Serum vitamin D metabolite levels and the subsequent development of prostate cancer (Hawaii, United States). *Cancer Causes Control*. 1998; 9: 425–32.

Nursyam EW, Amin Z, Rumende CM. The effect of vitamin D as supplementary treatment in patients with moderately advanced pulmonary tuberculous lesion. *Acta Med Indones*. 2006; 38:3–5.

Palmer HG, Gonzalez-Sancho JM, Espada J, et al. Vitamin D(3) promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of beta-catenin signaling. *J Cell Biol*. 2001; 154(2):369–87.

Peng J, Chen X, Berger UV, et al. Molecular cloning and characterization of a channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption. *J Biol Chem.* 1999; 274(32):22739-46.

Peters RK, Pike MC, Garabrant D, Mack TM. Diet and colon cancer in Los Angeles County, California. *Cancer Causes Control.* 1992; 3(5):457–73.

Pinzone MR, Di Rosa M, Celesia BM, Condorelli F, Malaguarnera M, Madeddu G, et al. LPS and HIV gp120 modulate monocyte/macrophage CYP27B1 and CYP24A1 expression leading to vitamin D consumption and hypovitaminosis D in HIV-infected individuals. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2013; 17: 1938-1950.

Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92:2017-29.

Platz EA, Leitzmann MF, Hollis BW, Willett WC, Giovannucci E. Plasma 1,25-dihydroxy- and 25-hydroxyvitamin D and subsequent risk of prostate cancer. *Cancer Causes Control.* 2004; 15(3): 255–65.

Prefeitura do Distrito Federal. Assistência pública e privada no Rio de Janeiro (Brasil): História e Estatística. Rio de Janeiro: Prefeitura do Distrito Federal, 1922.

Premaor MO, Furlanetto TW. Hipovitaminose D em adultos: entendendo melhor a apresentação de uma velha doença. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2006; 50(1):25-37.

Price PA. Vitamin K-dependent formation of bone Gla protein (Osteocalcin) and its function. *Vitam Horm.* 1985; 42:65-108.

Pritchard RS, Baron JA, Gerhardsson de Verdier M. Dietary calcium, vitamin D and the risk of colorectal cancer. *Int J Cancer*. 1997; 73:525-30.

Prosser DE, Jones G. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends in Biochemical Sciences*. 2004; 29(12): 664-673.

Provvedini DM, Tsoukas CD, Deftos LJ, Manolagas SC. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ receptors in human leukocytes. *Science*. 1983; 221:1181–3.

Rachez C, Freedman LP. Mechanisms of gene regulation by vitamin D-3 receptor: a network of coactivator interactions. *Gene*. 2000; 246:9–21.

Rees GS, Symes EK, Nicholl CG, Legon S, Chapman RS. Lack of correlation of free deoxypyridinoline excretion with Taq1 restriction length polymorphisms in the vitamin D receptor gene in males. *Clin Chim Acta*. 1998; 272(2): 149–57.

Robsahm TE, Tretli S, Dahlback A, Moan J. Vitamin D₃ from sunlight may improve the prognosis of breast-, colon-and prostate cancer (Norway). *Cancer Causes Control*. 2004; 15(2):149–58.

Rodriguez C, McCullough ML, Mondul AM, et al. Calcium, dairy products, and risk of prostate cancer in a prospective cohort of United States men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2003; 12(7):597–603.

Rodriguez M, Daniel SB, Gunawardene S, Robbins GK. High frequency of vitamin D deficiency in ambulatory HIV-positive patients. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009; 25:9-14.

Rosenfeld MG, Glass CK. Coregulator codes of transcriptional regulation by nuclear receptors. *J. Biol. Chem*. 2001; 276:36865–8.

Ruggiero M, Pacini S, Aterini S, Fallai C, Ruggiero C, Pacini P. Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with metastatic breast cancer. *Oncol Res.* 1998; 10(1):43–6.

Salazar-Martinez E, Lazcano-Ponce EC, Gonzalez Lira-Lira G, Escudero-De los Rios P, Hernandez-Avila M. Nutritional determinants of epithelial ovarian cancer risk: a case-control study in Mexico. *Oncology.* 2002; 63(2):151–7.

Sanchez-de-la-Torre M, Torres C, Nieto G, Vergara S, Carrero AJ, et al. Vitamin D Receptor Gene Haplotypes and Susceptibility to HIV-1 Infection in Injection Drug Users. *J Infect Dis.* 2008; 197(3): 405-10.

Sanglard G. Hospitais: espaços de cura e lugares de memória da saúde. *An. mus. paul.* 2007; 15(2).

Schwartz GG, Hulka BS. Is vitamin D deficiency a risk factor for prostate cancer? (Hypothesis). *Anticancer Res.* 1990;10(5A):1307–11.

Schwartz GG. Geographic trends in prostate cancer mortality: an application of spatial smoothers and the need for adjustment. *Ann Epidemiol.* 1997; 7(6):430.

Seminari E, Samaras K, Wand H, Law M, Emery S, Cooper D, et al. Osteoprotegerin and bone turnover markers in heavily pretreated HIV-infected patients. *HIV Med.* 2005; 6:145-50.

Shin MH, Holmes MD, Hankinson SE, Wu K, Colditz GA, Willett WC. Intake of dairy products, calcium, and vitamin D and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2002; 94(17):1301–11.

Shokravi MT, Marcus DM, Alroy J, Egan K, Saornil MA, Albert DM. Vitamin D inhibits angiogenesis in transgenic murine retinoblastoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995; 36(1):83–7.

St-Arnaud R, Messerlian S, Moir J, et al. The 25-hydroxyvitamin D 1 α -hydroxylase gene maps to the pseudovitamin D-deficiency rickets (PDDR) disease locus. *J Bone Miner Res*. 1997; 12(10) 1552-9.

Stephensen CB, Marquis GS, Kruzich LA, Douglas SD, Aldrovandi GM, Wilson CM. Vitamin D status in adolescents and young adults with HIV infection. *Am J Clin Nutr*. 2006; 83:1135-41.

Szep Z, Guaraldi G, Shah SS, Lo Re V 3rd, Ratcliffe SJ, Orlando G, Carli F, Rossi R, Rochira V, Tebas P. Vitamin D deficiency is associated with type 2 diabetes mellitus in HIV infection. *AIDS*. 2011; 25(4): 525-9.

T Welz, K Childs, F Ibrahim, M Poulton, CB Taylor, et al. Efavirenz is associated with severe vitamin D deficiency and increased alkaline phosphatase. *AIDS*. 2010; 24(12):1923–8.

Takeyama K, Kitanaka S, Sato T, et al. 25-hydroxyvitamin D₃ 1 α -hydroxylase and vitamin D synthesis. *Science*. 1997; 277(5333):1827-30.

Terry P, Baron JA, Bergkvist L, Holmberg L, Wolk A. Dietary calcium and vitamin D intake and risk of colorectal cancer: a prospective cohort study in women. *Nutr Cancer*. 2002; 43(1): 39–46.

Thomas M, Demay M. Vitamin D deficiency and disorders of vitamin D metabolism. *Endocrinol Metab Clin North AM*. 2000; 29(3):611-27.

Torres C, Sanchez-de-la-Torre M, Garcia-Moruja C, Carrero AJ, et al. Immunophenotype of Vitamin D Receptor Polymorphism Associated to Risk of

HIV-1 Infection and Rate of Disease Progression. *Current HIV Research*. 2010; 8(6):487-492.

Triant VA, Brown TT, Lee H, Grinspoon SK. Fracture Prevalence among Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Infected Versus Non-HIV-Infected Patients in a Large U.S. Healthcare System. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008; 93(9):3499-504.

Tuohimaa P, Lyakhovich A, Aksenov N, et al. Vitamin D and prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2001; 76(1–5):125–34.

Tuohimaa P, Tenkanen L, Ahonen M, et al. Both high and low levels of blood vitamin D are associated with a higher prostate cancer risk: a longitudinal, nested case-control study in the Nordic countries. *Int J Cancer*. 2004; 108(1): 104–8.

Unger MD, Cuppari L, Titan SM, Magalhães MCT, Sasaki AL, Reis LM, Jorgetti V, Moysés RMA. Vitamin D status in a sunny country: Where has the sun gone? *Clinical Nutrition*. 2010; 29(6):784-8.

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Clínica Médica B-10^a Enfermaria, Hospital Universitário Gaffrée e Guinle. Infraestrutura do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, Disponível em: <http://www.unirio.br/imunoalerg/infraestrutura.html>

Van Den Bout-Van Den Beukel CJ, Fievez L, Michels M, Sweep FC, Hermus AR, Bosch ME, et al. Vitamin D deficiency among HIV type 1-infected individuals in the Netherlands: Effects of antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2008; 24:1375-82.

Van Den Bout-van den Beukel CJP, Van Den Bos M, Oyen WJG, Hermus RMM, Sweep FCGJ, Tack CJJ, Bosch MEW, Burger DM, Koopmans

PP, Van Der Ven AJAM. The effect of cholecalciferol supplementation on vitamin D levels and insulin sensitivity is dose related in vitamin D-deficient HIV-1-infected patients. *HIV Medicine*.2008; 9(9):771–9.

Viard JP, Souberbielle JC, Kirk O, Knysz B, et al. Vitamin D and clinical disease progression in HIV infection: results from the EuroSIDA study. *AIDS*. 2011; 25(10):1305–15.

Villamor E. A potential role for vitamin D on HIV infection? *Nutr Rev*. 2006; 64:226-33.

Wagner D, Hanwell HEC, Vieth R. An evaluation of automated methods for measurement of serum 25- hydroxyvitamin D. *Clin Biochem* 2009; 42:1549-1556.

Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Benjamin EJ, Ingelsson E, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*. 2008; 117:503-11.

Wasserman RH, Chandler JS, Meyer SA, et al. intestinal calcium transport and calcium extrusion processes at the basolateral membrane. *J Nutr*. 1992; 122:662-71.

Wejse C, Gomes FV, Rabna P, Gustafson P, Aaby P, Lisse IM, Anderson PL, Glerup H, Sodemann M. Vitamin D as supplementary treatment for tuberculosis: a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009; 179:843–50.

Welz T, Childs K, Ibrahim F, Poulton M, Taylor CB, Moniz CF, Post FA. Efavirenz is associated with severe vitamin D deficiency and increased alkaline phosphatase. *AIDS*. 2010; 24(12):1923-8.

Wittke A, Weaver V, Mahon BD, August A, Cantorna MT. Vitamin D receptor-deficient mice fail to develop experimental allergic asthma. *J Immunol.* 2004; 173:3432-6.

Yasuda H, Shima N, Nagakawa N, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci.* 1998; 95(7):3597-602.

Zheng W, Anderson KE, Kushi LH, et al. A prospective cohort study of intake of calcium, vitamin D, and other micronutrients in relation to incidence of rectal cancer among postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998; 7(3):221-5.