



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PROPESP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ICB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA BÁSICA E
APLICADA - PPGIBA

SUBPOPULAÇÕES DE LINFÓCITOS T ASSOCIADOS A
PERDA ÓSSEA EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS
COM CARGA VIRAL CONTROLADA

REBECA DE SOUZA PINHEIRO

Manaus - AM

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PROPESP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ICB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA BÁSICA E
APLICADA - PPGIBA

REBECA DE SOUZA PINHEIRO

SUBPOPULAÇÕES DE LINFÓCITOS T ASSOCIADOS A
PERDA ÓSSEA EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS
COM CARGA VIRAL CONTROLADA

Dissertação apresentada para Defesa no Programa de Mestrado em Imunologia da Universidade Federal do Amazonas, na área de concentração imunologia básica e aplicada.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Afonso Nogueira

Coorientador: Prof. Dr. Yury Oliveira Chaves

Manaus - AM

2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

P654s Pinheiro, Rebeca de Souza
Subpopulações de linfócitos T associados à perda óssea em
pessoas vivendo com HIV/AIDS com carga viral controlada. /
Rebeca de Souza Pinheiro. 2023
90 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Paulo Afonso Nogueira
Coorientador: Yury Oliveira Chaves
Dissertação (Mestrado em Imunologia Básica e Aplicada) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. hiv. 2. perda óssea. 3. inflamação. 4. osteoimunologia. I.
Nogueira, Paulo Afonso. II. Universidade Federal do Amazonas III.
Título

Dedico as PVHA que participaram deste estudo, mesmo
que alguns infelizmente tenham falecido, isso é por
vocês e para vocês.

AGRADECIMENTOS

A Deus, o primeiro cientista, criador de tudo e a quem firmo minha fé. Aquele que me ama apesar dos meus pecados e falhas, e que nas horas de ansiedade, pânico estive e está sempre comigo. Obrigada por me fazer Sua filha.

Aos meus pais, Vilys e Juanita, por toda dedicação, esforço e apoio para que eu pudesse alcançar meus objetivos, muitas vezes abdicando de muitas coisas, para que eu e meus irmãos fossemos melhores em conhecimento e principalmente com o próximo, vocês são exemplos, amo vocês.

A minha saudosa avó Araby, quanta falta a senhora me faz, sempre me incentivando a estudar, dizendo que o único tesouro e herança que tenho são os estudos, lembro quando a senhora só ia dormir quando eu chegava do trabalho tarde da noite, sentada na cabeceira da mesa, me perguntando como eu estava. A senhora foi minha segunda mãe, e sinto muito, muito a sua falta, te amo para sempre.

A toda minha família, meus irmãos e irmãs, Melyssa, Samuel, Davi, Kassya e Kataryna, que foram meu apoio acreditando em mim, dizendo o quanto era e sou capaz de ir longe. Ao meu tio Radamés, que desde pequena me ensinou a sempre fazer perguntas. A minha tia Ramicéu, por não me deixar faltar as aulas quando criança, mesmo não querendo acordar cedo (rs), e a minha tia Karen, pelas palavras de incentivo e orações. Aos meus primos e primas, Daniel, Vitória, Josias, Josiel, Rainer, Stella, o apoio de vocês foi surreal. E a minha cunhada Carol, que mesmo sem saber, fez brotar confiança em mim, e por ser uma das responsáveis por trazer ao mundo, o ser que mesmo sem falar o meu nome, muda o meu dia, meu sobrinho David, amo vocês eternamente.

Ao meu coorientador, Dr. Yury Chaves, que tenho como pai científico, mas antes de tudo isso, eu chamava de cunhado. Como Dr. Yury, eu agradeço pela paciência, pelas cobranças, pelos ensinamentos, pela bancada, e acima de tudo por ser um ótimo pesquisador. Como Yury (cunhado), eu agradeço por fazer eu sair da caverna, sair da minha bolha, obrigada por ser meu amigo, confidente, irmão, e por muitas vezes um pai, me cobrando, brigando, me fazendo chorar (rs..), me trazendo para a realidade, de que eu não sou o que os outros pensam sobre mim, que não preciso me comparar com ninguém, e que eu não sou mais aquela de 10 anos, hoje eu sou corajosa e consigo me defender. Obrigada por tanto, amo você.

Ao meu orientador, Dr. Paulo Nogueira, por ter me aceitado como aluna de iniciação científica lá em 2018, mesmo não sabendo nada sobre mim, me aceitou e me acolheu nesse grupo, onde vejo que somos uma família, brigamos, mas no final acaba em perdão e risos (rs..). Obrigada pelo vasto conhecimento, pela paciência e dedicação em ensinar, e obrigada por lutar pelos seus alunos, nos defendendo com afinco.

As amigas que a vida e a pesquisa me deram, Priscila Menezes, Carolina Almeida, Carolina Shuan, Thaissy Xavier, Raíssa Castro, Ana Renate e Adriane Batalha, obrigada pelo apoio e pelos sorrisos que fez meus dias mais leves dentro e fora do laboratório.

A Dra. Rafaella Santos, pela disposição e paciência em revisar meu trabalho, a Dra. Elizângela Farias, pela ajuda nos ELISAS (a rainha dos ELISAS). E as demais pessoas do nosso grupo DCDIA/Vhiva Mais, obrigada pela companhia e risadas dentro e fora do laboratório.

Ao Dr. Flávio Ribeiro, por mostrar o verdadeiro sentido de ser médico, não como uma obrigação, mas como um propósito para a vida, observando que o paciente não é só um número de prontuário, mas alguém com sentimentos, vivências e limitações. Obrigada pelo amor que o senhor transmite na sua profissão.

Ao meus irmãos em Cristo, Pr. Fred e Pra. Michelle, obrigada pelas orações, palavras de apoio e encorajamento, e a minha célula Geração de Adoradores que são como uma família para mim, obrigada por todo o apoio, carinho e orações de vocês.

A Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, por contribuir dispondo de espaço e apoio para execução deste trabalho.

Ao Programa de Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada, por buscar melhorias na formação acadêmica dos discentes e por contribuir no meu crescimento profissional.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e a Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado do Amazonas, por todo o suporte financeiro e técnico na execução e manutenção deste trabalho.

A todos que de forma direta e indireta fizeram parte ou contribuíram com ensinamentos e vivências laboratoriais para a realização deste trabalho, muito obrigada.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Dr. Martin Luther King Jr.

RESUMO

Com o advento da terapia antirretroviral combinada (TARV), o número de pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHA) com idade acima dos 50 anos está aumentando e, com ele, uma crescente incidência de comorbidades idade-dependente, dentre elas a perda óssea. A causa da perda óssea precoce nas PVHA é influenciada por uma ativação imunitária crônica e uma inflamação sistêmica. Tais manifestações têm sido caracterizadas por subpopulações de linfócitos T hiperativados e fatores secretados por eles e por isso a definição desses fenótipos pode servir como bons marcadores de perda óssea em PVHA. O objetivo do estudo é avaliar que fenótipos de subpopulações de linfócitos TCD4⁺ e TCD8⁺ estão associadas a perda óssea em pessoas vivendo com HIV com carga viral controlada. O estudo foi executado na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado onde o recrutamento foi realizado por conveniência com 50 pacientes acima de 40 anos para o exame de densitometria óssea. Amostras de sangue periférico foram coletadas para realização do isolamento de células mononucleares de sangue periférico e criopreservadas a -80° C a fim de avaliar a fenotipagem de subpopulações de linfócitos TCD4⁺ e TCD8⁺ por citometria de fluxo. A imunofenotipagem quantificou subpopulações de linfócitos com perfil regulatório (PD-1 e CTLA-4), de ativação (HLA-DR), de atividade proliferativa (Ki-67) e de produtores de citocinas IL-10, IFN γ e TNF α por marcação intracitoplasmática. Dos 50 pacientes, 48 retornaram com o resultado de DMO: 13 osteoporose (4H,9M), 23 osteopenia (14H,9M) e 13 normal (10H,2M). Amostras de 34 PVHA estavam em condições de viabilidade celular acima dos 90% e foram reagrupados em: normal (11H) e osteopenia (10H; 9M). Quatro amostras de mulheres com osteoporose não foram incluídas devido incompatibilidade na comparação. Os dados de imunofenotipagem mostram que as populações TCD4⁺ e TCD8⁺ dos pacientes osteopênicos tem atividade proliferativa maior que os pacientes com DMO normal. Em relação ao perfil regulatório, os osteopênicos possuem uma quantidade menor de células CD4⁺CD3⁺CTLA-4⁺ e CD8⁺CD3⁺PD-1⁺ do que as PVHA com saúde óssea normal. Entretanto, as células CD4⁺CD3⁺CTLA-4⁺ nos osteopênicos apresentam níveis maiores de marcadores de ativação HLADR e CD69. A expressão a nível intracitoplasmático de IFN γ e TNF α pelas células CD4⁺CD3⁺CTLA-4⁺ mostrou comportamentos desiguais entre as PVHA com ou sem perda óssea. A mesma divergência ocorreu com os níveis de IFN γ intracitoplasmáticos em células TCD8⁺ PD1⁺. Nossos resultados sugerem que estes perfis de linfócitos TCD4⁺ e TCD8⁺ circulantes podem ter um papel na patogênese da osteopenia e osteoporose em PVHA.

Palavras-chave: HIV, Perda Óssea, Inflamação, Osteoimunologia

ABSTRACT

With the advent of combined antiretroviral therapy (cART), the number of people living with HIV/AIDS (PLWHA) aged of 50 years and older is increasing and, with it, an incidence of age-dependent comorbidities, including bone loss. The cause of early bone loss in PLWHA is influenced by chronic immune activation and systemic inflammation. Such manifestations have been characterized by cell subsets of hyperactivated T lymphocytes and factors secreted by them and, therefore, an evaluation of these subsets can serve as inflammatory markers in bone disease associated with HIV. The aim of the study is to evaluate CD4⁺ and CD8⁺ T cell subsets associated with bone loss in PLWHA with undetectable viral loads. The study was carried out at the Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado where the recruitment was carried out by convenience with 50 patients over 40 years of age that were submitted to dual energy X-ray absorptiometry (DXA) for bone densitometry examination. Blood samples were collected for isolation of peripheral blood mononuclear cells that were cryopreserved at -80° C until use. The phenotyping of TCD4⁺ and TCD8⁺ cell subsets were performed by flow cytometry for cells with regulatory profile (PD-1 and CTLA-4), activation (HLA-DR), proliferative activity (Ki-67) and IL-10-, IFN γ - and TNF α producing cells. Of the 50 patients, 48 returned with DXA exams: 13 osteoporosis (4 Men and 9Women), 23 osteopenia (14M, 9W) and 13 normal (10M, 2W). For immunophenotyping, samples of 34 PLWHA had cell viability above 90% after thawing and grouped into: normal (11M) and osteopenia (10M; 9W). Four samples from women with osteoporosis were not included due no counterpart of male samples. Data show that the CD4⁺ and CD8⁺ T cell subsets of osteopenic PLWHA have greater proliferative activity and higher levels of HLADR and CD69 than subsets of those with no bone loss. Regarding the regulatory profile, osteopenic PLWHA have a smaller number of CD4⁺CD3⁺CTLA-4⁺ and CD8⁺CD3⁺PD-1⁺ cells than with those with no bone loss. In addition, the intracytoplasmic expression of IFN γ and TNF α by CD4⁺CD3⁺CTLA-4⁺ cells showed unequal behavior between PLWHA with or without bone loss. The same divergence occurred with intracytoplasmic IFN γ levels in CD8⁺ PD1⁺ T cells. Our results suggest that these circulating CD4⁺ and CD8⁺ T cell subsets may have a role in the pathogenesis of osteopenia and osteoporosis in PLWHA.

Keywords: HIV, bone loss, inflammation, osteoimmunology

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Taxa de detecção de AIDS (por 100.000 habitantes) segundo UF e capital de residência.....	22
Figura 2 - Razão de sexos segundo faixa etária, por ano de diagnóstico.....	23
Figura 3 - Representação esquemática da estrutura do HIV-1.....	24
Figura 4 - Ciclo replicativo do HIV-1.....	25
Figura 5 - Curso clínico da doença causada pelo HIV-1.....	26
Figura 6 - Alvos das drogas antirretrovirais no ciclo da replicação viral.....	28
Figura 7 - Imagem do exame de densitometria mineral óssea.....	38
Figura 8 - Determinação das subpopulações de linfócitos T CD4 ⁺ T CD8 ⁺	49
Figura 9 - Fluxograma da inclusão e processamento das amostras dos pacientes.....	53
Figura 10 - Dosagem da concentração de CD14 solúvel.....	58
Figura 11 - Recuperação de CD4 ⁺ do diagnóstico até o último CD4 ⁺ em uso de TAR.....	59
Figura 12 - Frequência de subpopulações de linfócitos TCD4 ⁺ e frequência de níveis de ativação celular.....	60
Figura 13 - Expressão de subpopulações de linfócitos com perfil de T regulatória CD4 ⁺ e expressão de citocinas.....	61
Figura 14 - Recuperação de CD8 ⁺ do diagnóstico até o último CD8 ⁺ em uso de TARV.....	62
Figura 15 - Frequência de subpopulações de linfócitos TCD8 ⁺ e os de níveis de produção de citocinas.....	63
Figura 16 - Expressão de subpopulações de linfócitos TCD8 ⁺ PD-1 ⁺ e níveis de expressão de citocinas.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Correlação das complicações conforme a contagem de CD4	27
Tabela 2 - Pontuação de T-Score e Z-Score	39
Tabela 3 - Comparação da densidade mineral óssea e a probabilidade em 10 de risco de fratura entre mulheres menopausadas vivendo com HIV e mulheres não infectadas	41
Tabela 4 - Características clínicas e gerais da população do estudo que realizaram DMO.....	52
Tabela 5 - Características clínicas da população analisada separados por grupos.	54
Tabela 6 - Análises hematológicas entre PVHA normais e osteopênicas.	56
Tabela 7 - Análises bioquímicas entre PVHA normais e osteopênicas.....	57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Esquema de indicações e terapia antirretroviral combinada.....	28
Quadro 2 - Quadro 2 – Fórmulas utilizadas para o isolamento de PBMC.....	45
Quadro 3 – Anticorpos monoclonais.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
µg	Micrograma
µL	Microlitro
3TC	Lamivudina
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida)
ARVs	Antirretrovirais
ATP	Adenosina trifosfato
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CCR5	Inibidor de receptor de quimiocina do tipo 5
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CTLA-4	Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 (Antígeno 4 do linfócito T citotóxico)
CTLA-4-Ig	Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 Ig (Antígeno 4 com cadeia Fc de imunoglobulina associado a linfócitos T citotóxicos)
CXCR4	Receptor de quimiocina do tipo 4
DHL	Desidrogenase láctica
DMO	Densidade mineral óssea
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio padrão
DTG	Dolutegravir
DXA	Dual-energy X-ray (Absorciometria de Dupla Energia)
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid (Ácido etilenodiamino tetracético)
EFV	Efavirenz
ENV	Gene estrutural do HIV
FMT-HVD	Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado
GAG	Gene estrutural do HIV
GAMA GT	Gama glutamil transferase
gp120	Glicoproteína 120 do HIV
gp41	Glicoproteína 41 do HIV
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
Hb	Hemoglobina

HCM	Hemoglobina corpuscular média
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
HIV-1	Human immunodeficiency vírus 1 (Vírus da Imunodeficiência Humana 1)
HLA-DR	Human leucocyte antigen (Antígeno leucocitário humano)
HTC	Hematócrito
IFNγ	Interferon tipo II
IL-10	Interleukin 10 (Interleucina 10)
IMC	Índice de massa corporal
INI	Inibidor da integrase
IP	Inibidor de protease
IQR	Varição interquartil
IST	Infecções sexualmente transmissíveis
ITRN	Inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo
ITRNN	Inibidor da transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LPS	Lipopolissacarídeo
MIF	Média de intensidade de fluorescência
mL	Mililitro
mm³	Milímetro cúbico
MVH	Mulheres vivendo com HIV
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell (Célula mononuclear do sangue periférico)
PBS-1X	Phosphate buffered saline - 1x (Tampão salina-fosfato - 1x)
PBS-P	Phosphate buffered saline - Permeabilization (Tampão salina-fosfato - Permeabilização)
PBS-W	Phosphate buffered saline - Wash (Tampão salina-fosfato - Lavagem)
PD-1	Programmed death 1 (Morte programada 1)
PDW	Platelet distribution width (Amplitude de distribuição plaquetária)
PLT	Plaquetas
POL	Gene estrutural do HIV
PTH	Parathyroid hormone (Hormônio da paratireoide)
PVHA	Pessoas Vivendo com HIV/AIDS
RAL	Raltegravir

RANKL	Receptor activador of nuclear factor kappa-B ligand (Ativador do receptor do ligante do fator nuclear kappa-B)
RBC	Red blood cell (Contagem de hemácias)
RDW	Red cell distribution width (Amplitude de distribuição eritrocitária)
RNA	Ribonucleic Acid (Ácido ribonucleico)
RPMI	Roswell Park Memorial Institute (Meio RPMI-1640)
sCD14	CD14 solúvel
SFB	Soro fetal bovino
SUS	Sistema Único de Saúde
TARV	Terapia antirretroviral
T CD4+	Linfócito T auxiliar
T CD8+	Linfócito T citotóxico
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDF	Tenofovir
TGO	Transaminase glutâmico-oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico-pirúvica
TNFα	Tumour necrosis factor alpha (Fator de necrose tumoral alfa)
Tregs	Células T reguladoras
UF	Unidade Federativa
UNAIDS	Programa conjunto das nações unidas sobre HIV/AIDS
UPCCB	Unidade de Pesquisa Clínica Carlos Borborema
VCM	Volume corpuscular médio
VPM	Volume plaquetário médio
WHO	World health organization (ONU)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1. Breve histórico da infecção pelo HIV	21
2.2. Epidemiologia do HIV no Mundo, Brasil e no Amazonas.....	22
2.3. Estrutura, ciclo replicativo e infecção pelo vírus HIV-1	23
2.4. Terapia antirretroviral combinada	27
2.5. Tratamento do HIV no Brasil	29
2.6. Alterações do perfil de morbidade e mortalidade das PVHA com carga viral suprimida devido TARV	30
2.7. Infecção pelo HIV e o impacto do uso prolongado da TARV na perda óssea.....	32
2.8. Metabolismo ósseo e a relação imunoquelética	34
2.9. Desequilíbrio da relação imunoquelética na infecção do HIV.....	36
2.10. Avaliação da densidade mineral óssea	37
2.11. Estudos preliminares da equipe no contexto da perda óssea em PVHA.....	39
3. OBJETIVOS	42
3.1. Objetivo Geral	42
3.2. Objetivos Específicos	42
4. METODOLOGIA	43
4.1. Aspectos éticos	43
4.2. Tipo de Pesquisa.....	43
4.3. Local do Estudo	43
4.4. População de estudo	43
4.5. Critérios de inclusão, não inclusão e exclusão	44
4.6. Coleta de amostras.....	44
4.7. Análise Hematológica	44
4.8. Coleta dos dados clínicos	45

4.9. Isolamento de Células Mononucleares do Sangue Periférico (PBMC).....	45
5.1.1 Separação e armazenamento das células.....	45
5.1.2 Descongelamento de PBMCs.....	47
5.2 Imunofenotipagem de subpopulações de leucócitos com marcação de superfície e intracelular.....	47
5.2.1 Leitura e análise das marcações.....	48
5.3 Amostras e dados secundários de grupo de PVHA internados na FMT-HVD.	49
5.4 Dosagem de CD14 solúvel (sCD14).	49
5.5 Plano de análises de dados.....	50
5. RESULTADOS.....	51
5.1. Características demográficas e epidemiológicas dos pacientes.....	51
5.2. Disfunção imunológica pela avaliação de subpopulações de linfócitos TCD4 ⁺ e TCD8 ⁺ em PVHA com e sem perda óssea.....	53
6. DISCUSSÃO.....	65
7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	70
8. CONCLUSÃO.....	71
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
10. ANEXOS.....	82

1. INTRODUÇÃO

Desde o advento da terapia antirretroviral combinada (TARV) e a concomitante redução da morbidade e mortalidade do Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês Human Immunodeficiency Virus, HIV), a história natural da doença vem se alterando e transformando-se em crônica devido a diminuição dos casos de síndrome da imunodeficiência adquirida (do inglês Acquired Immunodeficiency Syndrome - AIDS) e a redução das infecções oportunistas (PAIARDINI et al., 2008). O cenário de controle da infecção e a diminuição de mortes por AIDS trouxe à tona outra reflexão, as pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHA) estão alcançando a maior idade, logo, o número de casos em idade avançada acima de 50 anos vem apresentando um aumento crescente (CDC, 2022).

Com o aumento idade avançada esses indivíduos têm maior risco de polifarmácia e carga maior de comorbidades relacionadas à idade, tais como doenças cardiovasculares, neurocognitivas e ósseas. Além disso, essas comorbidades se apresentam em uma idade mais precoce do que o esperado em pessoas HIV-negativas (WARRINER; MUGAVERO; OVERTON, 2014).

A perda óssea é uma consequência natural do envelhecimento, no entanto, ela é aumentada na infecção pelo HIV e exacerbada no uso contínuo da TARV (WARRINER; MUGAVERO; OVERTON, 2014; WEITZMANN, 2017). O prolongado tempo de infecção viral e uso da TARV são relatados como alterações osteoarticulares e uma crescente diminuição da Densidade Mineral Óssea (DMO) (BANDER; PARCZEWSKI, 2012). O uso contínuo de inibidores de transcriptase reversa da classe de análogos de nucleosídeo timidina e de protease estão associados a reduções na DMO (ASSOUMOU et al., 2013; BROWN et al., 2015; STARUP-LINDE et al., 2020; WARRINER; MUGAVERO; OVERTON, 2014).

A perda óssea anormal continua observada nas PVHA em uso contínuo da TARV envolve outros fatores, dos quais alguns são independentes e outros dependentes da relação com o HIV (BIVER, 2022). Dentre os independentes, os principais são aumento da idade; baixo índice de massa corporal; história parental de fratura de quadril; exposição a glicocorticoides; artrite reumatoide; tabagismo atual; uso de inibidor seletivo de recaptção de serotonina, antidepressivos; dependência de álcool e/ou outras substâncias; estado pós-menopausa em mulheres; hipogonadismo em homens, imobilidade prolongada; má absorção; deficiência de vitamina D e cirrose hepática (ABREU et al., 2022; BIVER, 2022; CAERAN et al., 2022; OLIVEIRA et al., 2022; STONE et al., 2010).

Em relação aos fatores dependentes da infecção HIV, a duração da infecção pelo HIV, a carga viral do HIV, a baixa contagem de células CD4 (CD4 nadir) e a inflamação crônica têm sido associados à DMO reduzida (STONE et al., 2010). O tempo desde a data do diagnóstico e a exposição prolongada à carga viral não suprimida também têm sido associados à perda de DMO (BRUERA et al., 2003; DOLAN; KANTER; GRINSPOON, 2006; MONDY et al., 2003). Estudos mostram que a extensão do aumento na contagem de células CD4 é diretamente proporcional ao aumento da DMO na coluna lombar, enquanto altas cargas virais de HIV correlacionam-se positivamente com DMO reduzida (DOLAN; KANTER; GRINSPOON, 2006; FAUSTO et al., 2006; MONDY et al., 2003).

Por outro lado, não há um consenso de ambos os fatores visto que outros estudos mostram resultados contraditórios, que nem a alta carga viral do HIV nem a baixa contagem nadir de CD4 estavam associadas à redução da DMO, indicando que não há consenso sobre esses fatores (BRUERA et al., 2003; STONE et al., 2010).

Para o entendimento sobre a influência da inflamação crônica sobre a perda óssea é necessário compreender a biologia do osso. O esqueleto é formado através de uma modelagem óssea que envolve a deposição de matriz óssea (predominantemente colágeno) e sua mineralização (predominantemente fosfato de cálcio). Esse processo realizado por células ósseas é regulado por elementos imunológicos que incluem células imunes e citocinas. Em condições fisiológicas o sistema imunológico regula benéficamente o esqueleto. O osso está constantemente em remodelação num equilíbrio sincronizado entre as células osteoblásticas formadoras de osso e os osteoclastos que reabsorvem o osso. No entanto, em estados de patologia e disfunção imunológica, como a inflamações crônicas em doenças autoimunes e na infecção pelo HIV, os danos ao osso resultam em perda óssea (AMOROSA; TEBAS, 2006; BIVER, 2022; OLIVEIRA et al., 2022; STONE et al., 2010; WEITZMANN, 2017).

A inflamação crônica é uma característica reconhecida em PVHA em supressão viral. Ela é gerada por uma ativação imunológica persistente provocada por uma translocação sistêmica de produtos bioativos microbianos oriundos da mucosa gastrointestinal danificada (OFOTOKUN; MCINTOSH; WEITZMANN, 2012), essa inflamação crônica reflete em aumentos de citocinas pró-inflamatórias circulantes e alterações em perfis de células T hiperativadas e com aspectos funcionais de senescentes e de exaustão que são comuns em pessoas idosas (FÜLÖP; LARBI; PAWELEC, 2013; GAZZOLA et al., 2013).

Há poucos estudos sobre DMO relacionados à inflamação, ativação imunológica/senescência e até o momento este será o primeiro estudo a avaliar a relação entre a perda de DMO com a resposta celular de fenótipos de exaustão e ativação

imunológica/senescência frente a estímulos específicos e inatos. Aqui o estudo investigou se ativação aumentada de células T em PVHA com viremia suprimida representa um fator independente de redução da DMO e patogênese da osteopenia/osteoporose.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Breve histórico da infecção pelo HIV

O HIV é agente etiológico responsável pelo desenvolvimento da doença AIDS foi identificado em meados da década de 1980, entretanto os primeiros casos da infecção pelo HIV remontam de 1978 no continente africano, e o primeiro caso de AIDS no Brasil foi notificado na cidade de São Paulo em 1980 (BARRÉ-SINOUSSE et al., 1983; GALLO et al., 1983; MONTAGNIER, 2002).

No Brasil, a maior parte das infecções pelo HIV ficou restrita às denominadas metrópoles nacionais - São Paulo e Rio de Janeiro - tendo como categorias de exposição preponderantes os homossexuais, os bissexuais masculinos, os hemofílicos as pessoas que recebiam sangue e hemoderivados (BASTOS et al., 1995). Os primeiros casos notificados de AIDS foram predominantes em homens homossexuais que começaram a adoecer, devido a uma imunodeficiência celular que debilitava o sistema imunológico e propiciava o aparecimento de infecções oportunistas. Considerada uma doença crônica transmissível, a AIDS se espalhou rapidamente no decorrer dos anos, tornando-se um desafio global de Saúde Pública (GOTTLIEB et al., 1981).

A AIDS passou a ser descrita como uma patologia que causava uma deterioração progressiva do sistema imune, que na sua forma de manifestação clínica avançada era responsável por uma elevada mortalidade. Na época, a doença causada por um vírus novo era pautada pelo medo, morte, preconceito e discriminação, onde pouco se conhecia o diagnóstico e tratamento. A resultante dos casos de AIDS detectados ao longo da história era caracterizada principalmente por doenças oportunistas, inicialmente com pneumocistose e sarcoma de Kaposi, seguido de tuberculose e doenças fúngicas (CDC, 1981).

Ao longo desses anos, as infecções oportunistas que ganharam destaque foram: dermatite seborreica, herpes zoster, infecções do trato respiratório, candidíase oral, leucoplasia pilosa oral, tuberculose pulmonar, infecções bacterianas, pneumocistose, pneumonia bacteriana recorrente, toxoplasmose cerebral, criptosporidiose e isosporose crônica, criptococose extrapulmonar, sarcoma de Kaposi, tuberculose extrapulmonar (HOLMES et al., 2003).

Na segunda metade da década de 1990, com a descoberta e introdução da TARV, houve uma mudança de paradigma com relação ao prognóstico da infecção que a tornou uma infecção

crônica passível de controle através do tratamento através do uso da terapia antirretroviral (MAARTENS; CELUM; LEWIN, 2014).

2.2. Epidemiologia do HIV no Mundo, Brasil e no Amazonas

Desde a descoberta do vírus pelo menos 85,6 milhões de pessoas já foram infectadas. Atualmente em todo mundo cerca de 39 milhões de pessoas estão vivendo com HIV e destes pelo menos 1,3 milhões foram novas infecções/diagnósticos, e quando analisados por gênero, as mulheres representam nos dias de hoje 76% de todas as pessoas vivendo com HIV (UNAIDS, 2023) No Brasil, em 2022 o total de pessoas vivendo com HIV foi de 990 mil, novas infecções pelo HIV foi 51 mil e óbitos relacionados à AIDS foi de 13 mil (UNAIDS, 2022).

O Amazonas registra aproximadamente 23 mil pessoas vivendo com HIV, e em 2022 o estado do Amazonas registrou 1.494 novas infecções por HIV, e em Manaus foram registrados 1.385 novos casos de HIV. Tanto a unidade federativa (UF) como a capital, estão em primeiro lugar no ranking referente às taxas de detecção de AIDS, o Amazonas apresentando a maior taxa, com 39,7 casos por 100 mil habitantes, e a cidade de Manaus, apresentando a taxa de 64,6 casos por 100 mil habitantes, valor bem superior ao da taxa do Amazonas e quase quatro vezes a taxa do Brasil (Figura 1) (BRASIL, 2022).

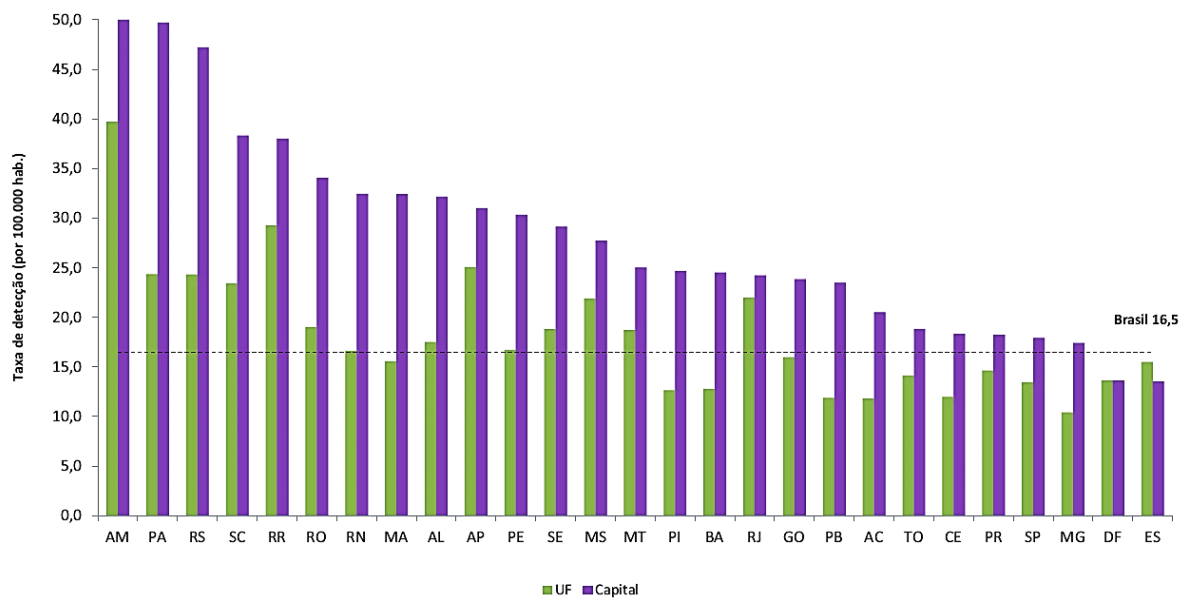


Figura 1 - Taxa de detecção de AIDS (por 100.000 habitantes) segundo UF e capital de residência. Brasil 2021*

Fonte: Sinan; Siscel/Siclom; SIM.

Nota: (*) Casos notificados no Sinan e Siscel/Siclom até 30/06/2022; no SIM, de 2000 a 2021.

De acordo com o portal da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), que é o centro de referência para PVHA, 457 casos de AIDS e 192 óbitos por AIDS (SINAN NET, 2022).

Ao observarmos a relação da faixa etária. Em 2022, a faixa etária que apresentou a menor razão de sexos foi a de 50 anos ou mais, com razão de 1,8, e a faixa etária que apresentou a maior razão de sexos foi a de 20 a 29 anos, com razão de 3,9. Indicando a necessidade de maior atenção em pessoas jovens e principalmente em adultos (Figura 2) (BRASIL, 2022).

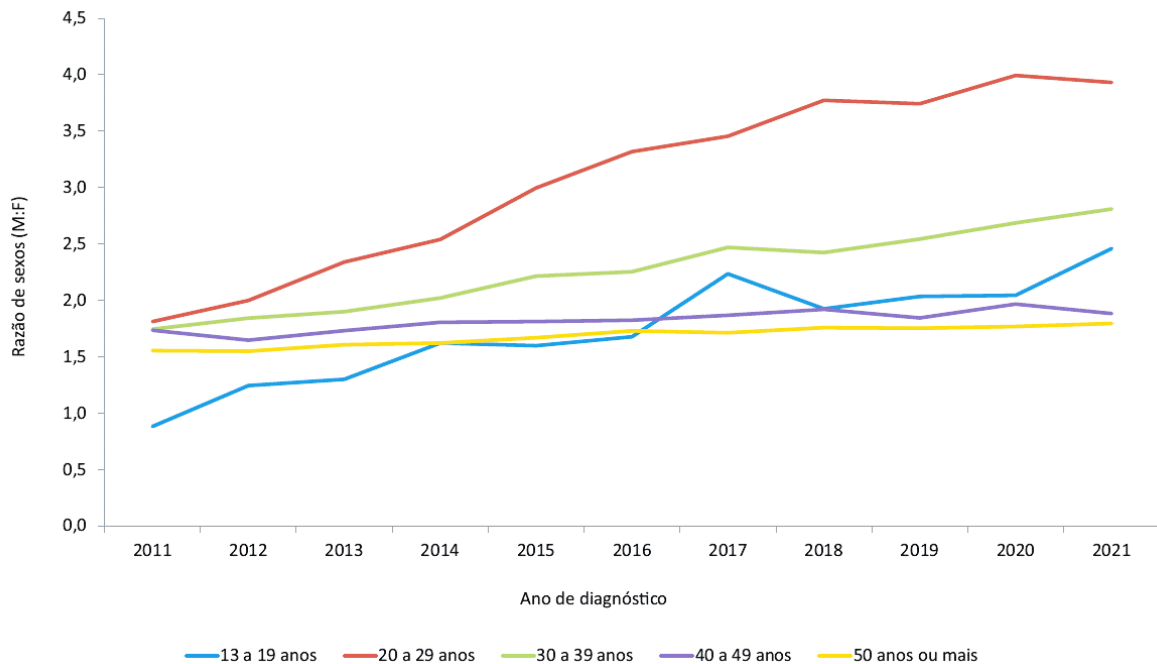


Figura 2 - Razão de sexos segundo faixa etária, por ano de diagnóstico. Brasil, 2011 a 2021*

Fonte: Sinan; Siscel/Siclom; SIM.

Nota: (*) Casos notificados no Sinan e Siscel/Siclom até 30/06/2022; no SIM, de 2000 a 2021.

2.3. Estrutura, ciclo replicativo e infecção pelo vírus HIV-1

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) pertence a ordem *Ortervirales*, pertencente à família *Retroviridae*, da subfamília *Orthoretrovirinae* e o gênero *Lentivírus*, ou seja, genoma constituído por RNA e com enzimas capazes de realizar retrotranscrição (DEEKS, 2011; STECKBECK; KUHLMANN; MONTELARO, 2013).

Na figura 3, podemos observar que a estrutura do vírus do HIV-1, possui uma estrutura composta por um envelope lipoprotéico, contendo espículas glicoproteicas gp120 e gp41, e através de alterações conformacionais da gp120 possibilitam a fusão e a entrada na célula hospedeira (DEEKS, 2011).

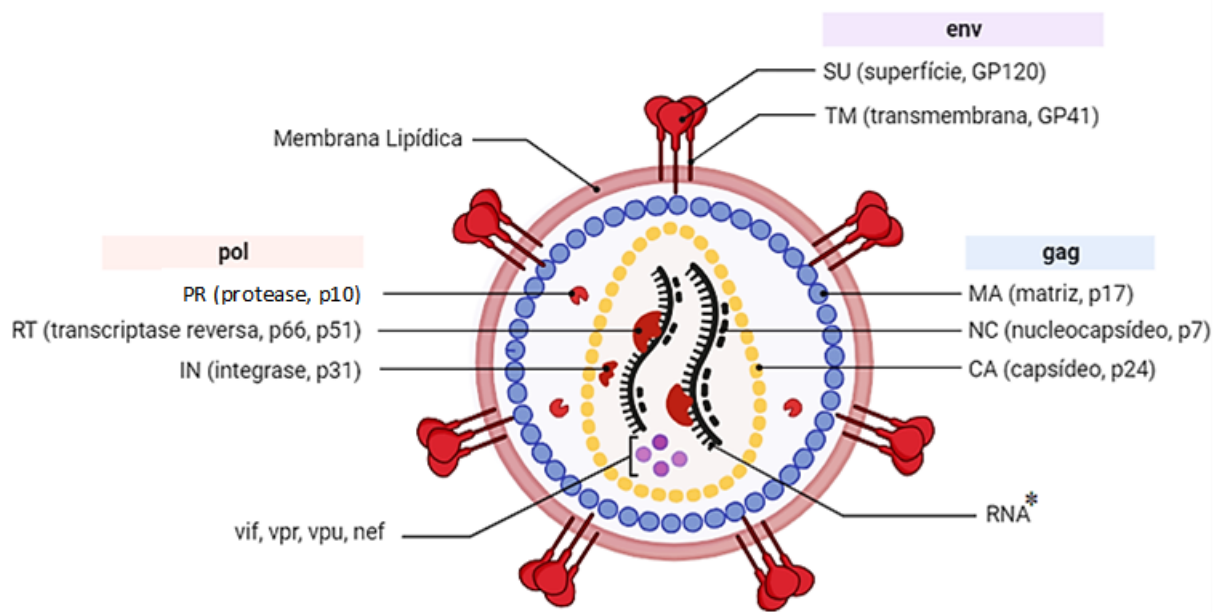


Figura 3 - Representação esquemática da estrutura do HIV-1. (Adaptado de STECKBECK; KUHLMANN; MONTELARO, 2013). Criado no BioRender.com

O HIV possui três genes principais, o *gag*, *pol* e o *env*. O *gag* codifica as proteínas na matriz (p17), o nucleocapsídeo (p7) e o capsídeo (p24). O gene *pol* que codifica genes importantes para o ciclo viral dentro da célula hospedeira, como a protease (p10), transcriptase reversa (p66, p51) e a integrase (p31). E por fim o gene *env* que codificam as glicoproteínas gp120 e gp41, que são responsáveis pela invasão do vírus na célula (PINTO; STRUCHINER, 2006; SIMON; HO; KARIM, 2006).

O ciclo de replicação do HIV-1, inicia-se com a fixação do vírus ao receptor de CD4 ao correceptor de quimiocina existentes na superfície celular, reconhecendo as proteínas presentes na membrana da célula alvo (Figura 4). Após a fusão do envelope viral na membrana celular, o capsídeo é exposto dentro da célula e a enzima da transcriptase reversa converte o RNA viral em um DNA de fita dupla, após esta etapa, o material genético gerado é transportado para o núcleo da célula e será integrado ao DNA da célula hospedeira pela ação da enzima integrase, a partir dessa etapa, a célula passa a produzir muitas cópias do material genético do vírus, o RNA (CORADO et al., 2017; MAARTENS; CELUM; LEWIN, 2014; SIMON; HO; KARIM, 2006).

Uma vez acontecendo essa alta produção de genoma do vírus do HIV (RNA viral), no núcleo da célula hospedeira, parte desse RNA se tornará um novo vírus, enquanto a célula usa outras cópias do RNA para fazer novas proteínas do HIV, essas proteínas virais ficam condensadas na área da membrana plasmática, e então acontece o brotamento dos vírions maduros, ou seja, novas partículas virais, que são capazes de infectar novas células (SIMON; HO; KARIM, 2006).

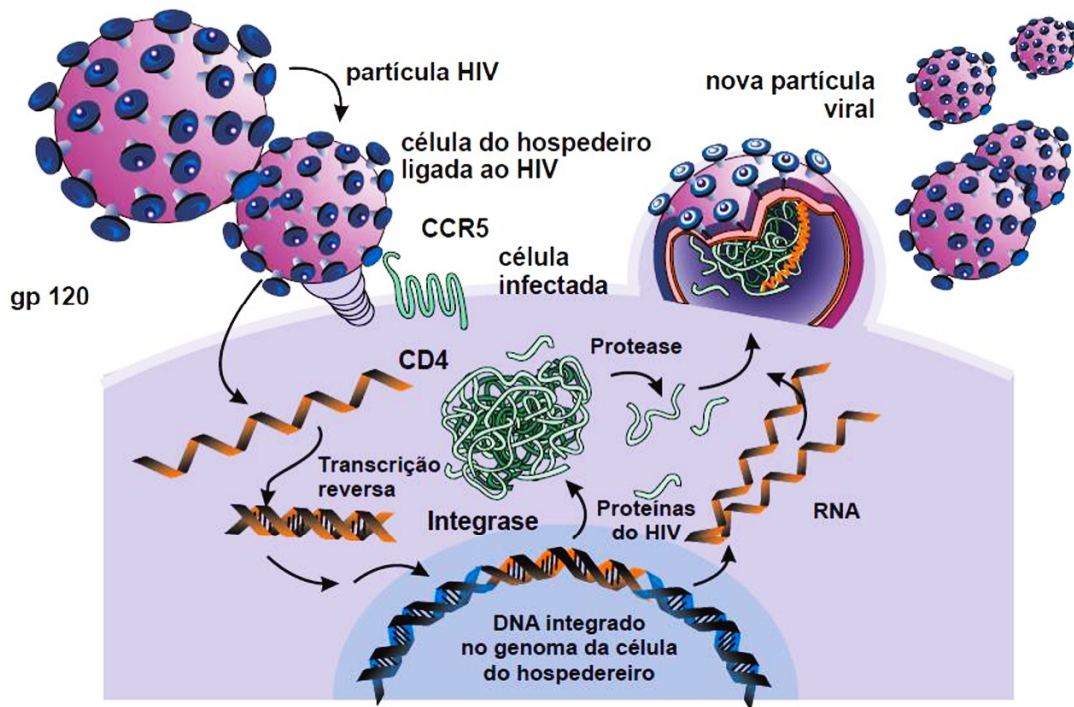


Figura 4 - Ciclo replicativo do HIV-1. (Adaptado de SIMOM; HO; KARIM, 2006).

A história natural da infecção pelo HIV é caracterizada pela da imunidade, devido a infecção do HIV às células do sistema imunológico, principalmente linfócito T CD4⁺, ocasionando o aparecimento severo de infecções que o sistema imune conseguiria controlar. De acordo com sua fisiopatologia, os órgãos linfoides são os sítios primários para a replicação e propagação do vírus. (DEEKS, 2011; PANTALEO; FAUCI, 1996).

A infecção é descrita em quatro fases clínicas diferentes: infecção aguda; fase crônica, também conhecida como latência clínica e a doença propriamente dita AIDS (Figura 5) (BRASIL, 2018).

A fase aguda (Figura 5), ou síndrome da infecção retroviral aguda ou infecção primária, ocorre em cerca de 50% a 90% dos pacientes e é pouco diagnosticada, pois a presença de anticorpos específicos não é detectada, apesar do alto nível de viremia (ALCAMÍ, 2004). Pode durar de 4 a 12 semanas sem sintomas clínicos específicos, onde, frequentemente, ocorre: febre, dor de cabeça, entre outros sintomas comuns a outras doenças virais (KATZENSTEIN et al., 2003).

A fase crônica ou latência clínica (Figura 5) é caracterizada pela forte interação entre o sistema imunológico e as constantes e rápidas mutações do vírus. Ela pode durar até 10 anos ou até que se iniciem as infecções oportunistas ou quadros clínicos graves e persistentes, caracterizando o surgimento da AIDS (PANTALEO; FAUCI, 1996).

No início da fase de AIDS (Figura 5), caracterizada com taxa de $CD4^+$ abaixo de 400 células/ mm^3 , ou 350 células/ mm^3 segundo protocolos internacionais e nacionais, a PVHA pode apresentar diversos sintomas inespecíficos de intensidade variável e algumas infecções oportunistas como a pneumonia bacteriana, tuberculose, herpes-zoster, candidíase, sarcoma de Kaposi e algumas alterações não infecciosas como a leucoplasia e cânceres, e por fim, surge a AIDS avançada (Figura 4) que corresponde ao estágio final caracterizado pela decorrência da debilidade do sistema imunológico do hospedeiro e pelo surgimento de infecções oportunistas (ALCAMÍ, 2004). Além das doenças de origem infecciosas consideradas como doenças oportunistas, vários tipos de doenças neoplásicas podem surgir neste período (BRASIL, 2018).

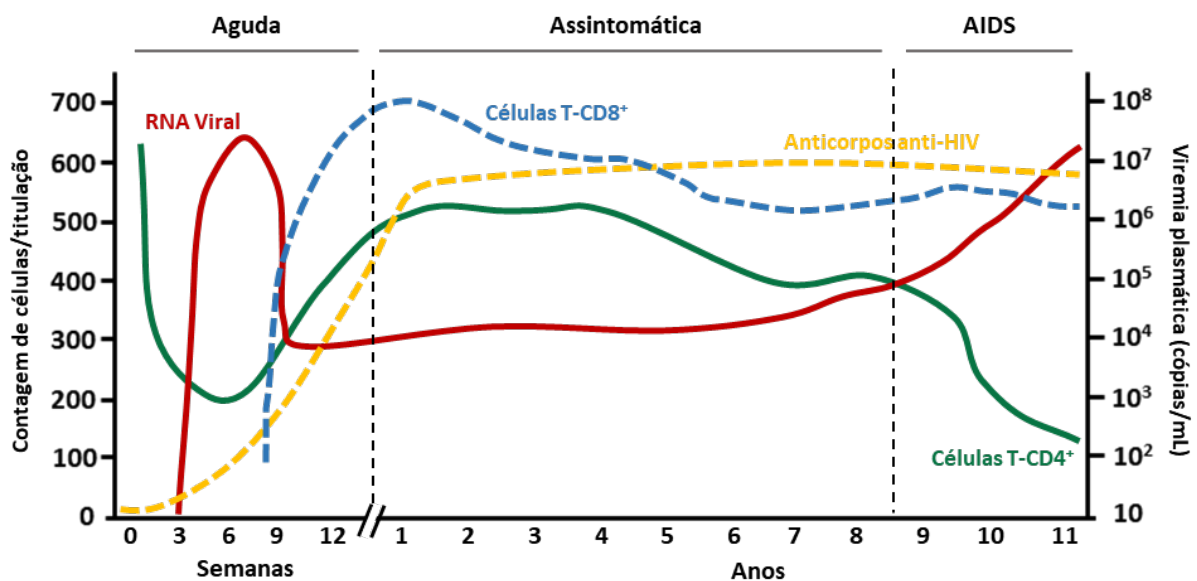


Figura 5 - Curso clínico da doença causada pelo HIV-1. Infecção primária caracterizada por alta carga viral (linha vermelha), células T $CD4^+$ baixas (linha verde) e ausência de anticorpos específicos para HIV-1 (linha amarela). A viremia diminui à medida que as células T $CD8^+$ se desenvolvem (linha azul) e um ponto de ajuste de carga viral individual é alcançado durante a infecção crônica. (Adaptado de SIMOM; HO; KARIM, 2006). Criado no BioRender.com

Essas doenças têm correlações com as taxas de células $CD4^+$ (Tabela 1), com redução progressiva para abaixo de 200 células/ mm^3 , algumas das infecções oportunistas disseminam como a tuberculose extrapulmonar e candidíase esofágica. Outras infecções surgem, como por exemplo, pneumocistose, histoplasmose, toxoplasmose, e salmonelose septicêmica. Nessa fase surgem os sintomas mais típicos da AIDS, como a diarreia persistente, dores de cabeça, contrações abdominais, febre, falta de coordenação, náuseas, vômitos, fadiga extrema, perda de peso e câncer. Com a redução abaixo de 100 células/ mm^3 , há disseminação de herpes simples, criptococose, criptosporidiose e isosporíase. Com a redução abaixo de 50 células/ mm^3 , citomegalovírus disseminado, micobacteriose não tuberculosa, microsporidiose e herpes-zoster disseminado, e linfoma primário do sistema nervoso central (BRASIL, 2018).

Tabela 1 - Correlação das complicações conforme a contagem de CD4.

Contagem de CD4 (células/mm ³)	Doença
> 500	Síndrome retroviral aguda, linfadenopatia generalizada persistente.
< 500	Pneumonia bacteriana, tuberculose pulmonar, herpes-zóster, candidíase orofaríngea, sarcoma de Kaposi, leucoplasia pilosa oral, câncer cervical e anal, linfoma de células B.
< 200	Pneumocistose, histoplasmose, toxoplasmose, tuberculose extrapulmonar/miliar, candidíase esofágica, septicemia por <i>Salmonella</i> .
< 100	Herpes simples disseminado, criptococose, leucoencefalopatia multifocal progressiva, criptosporidiose, isosporíase.
< 50	Citomegalovírus disseminado, micobacteriose não tuberculosa, linfoma primário do SNC, microsporidiose, herpes-zóster disseminado.

BRASIL, 2018.

Após o surgimento e adesão ao tratamento com a TARV, as PVHA passaram a ter uma melhor qualidade de vida. Em contrapartida a infecção crônica persistente acompanhada por fatores associados ao estilo de vida, tais como tabagismo, alcoolismo, sedentarismo e estado nutricional inadequado, pode proporcionar o surgimento de enfermidades crônicas e um envelhecimento precoce. No entanto, os efeitos adversos do uso contínuo TARV tem impactado consideravelmente na fragilidade e, conseqüentemente, na precocidade de doenças relacionadas ao envelhecimento (BROWN; QAQISH, 2006; WARRINER; MUGAVERO; OVERTON, 2014).

2.4. Terapia antirretroviral combinada

A TARV consiste na combinação de drogas que tem o objetivo de bloquear etapas ou enzimas do ciclo replicativo suprimindo a replicação viral. A TARV pode ser composta por inibidores de receptor de quimiocina tipo 5 (CCR5) ou receptor de quimiocina do tipo 4 (CXCR4), inibidores de fusão ou entrada, inibidores da transcriptase reversa análogos à nucleotídeos (ITRNs) ou inibidores da transcriptase reversa não-análogos à nucleosídeos (ITRNNs), inibidores da integrase (INI) ou inibidores de protease (IP) (Figura 6). A TARV

resultou na melhoria substancial na qualidade de vida dos PVHA e no declínio de mortes associadas à aids em todo o mundo (BRASIL, 2018; UNAIDS, 2021).

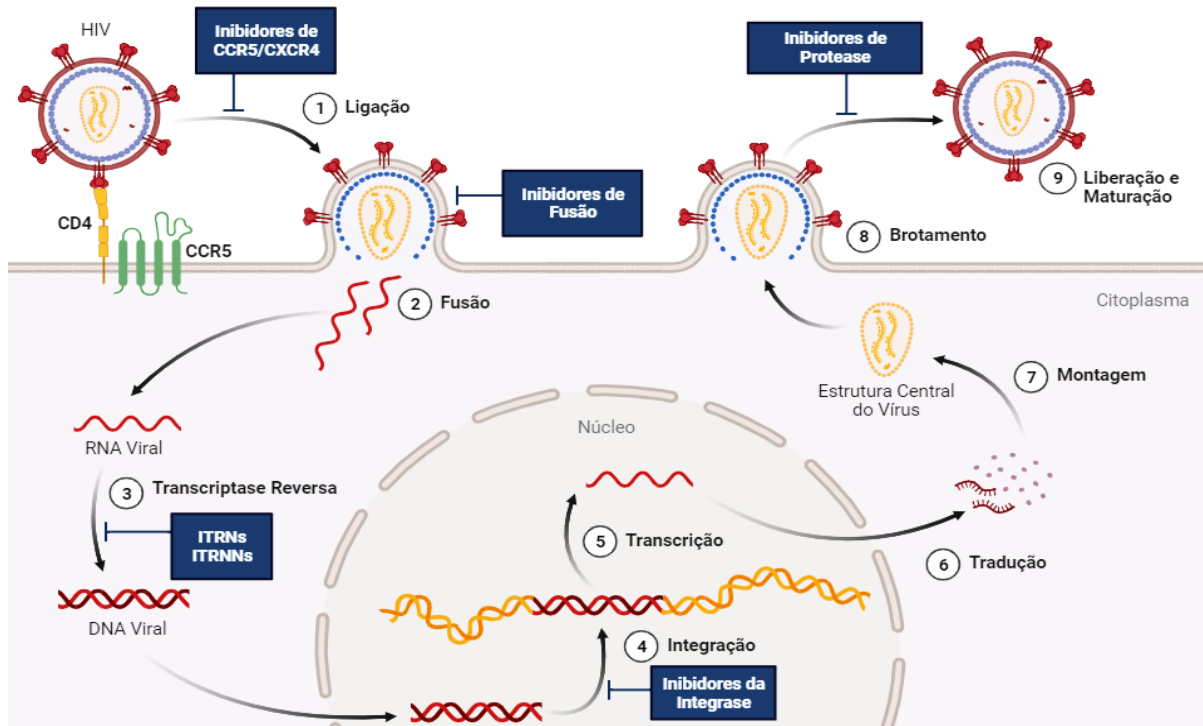


Figura 6 - Alvos das drogas antirretrovirais no ciclo da replicação viral. As principais classes de fármacos usadas na terapia antirretroviral (TARV) responsável por combater áreas específicas da replicação viral do HIV-1, como inibidores de CCR5/CXCR4, inibidores de fusão, inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleotídeos (ITRNs), inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNNs), inibidores de integrase e inibidores de protease (IP). (Adaptado de BRUNTON; CHABNER, 2012), criado no BioRender.com

Desde 1996, o Departamento Nacional de Vigilância, Prevenção, e Controle das IST, HIV/AIDS e Hepatites Virais do Ministério da Saúde distribui gratuitamente TARV (BRASIL, 2018). Em 2013, o Brasil foi o terceiro país, depois de França e Estados Unidos a fornecer os ARVs independentemente da contagem de células T CD4⁺ (RICHARDSON; GRANT; ZOLOPA, 2014; RIDDLER et al., 2008). O tratamento para todos imediatamente após o diagnóstico do HIV trouxe uma recuperação rápida do sistema imunológico, diminuição gradativa de mortes por AIDS e aumento da sobrevivência das PVHA (BRASIL, 2018; MOCROFT et al., 2007).

A primeira linha terapêutica recomendada em 2008 envolvia o uso de dois ITRNs e uma terceira droga, que era preferencialmente um ITRNNs. Caso houvesse falha aos medicamentos de primeira linha, a segunda linha era indicada pelo uso de IP (Inibidor de protease) e por fim, caso houvesse uma falha na segunda linha, a terapia de resgate era recomendada pelo uso de um inibidor de integrase ou inibidores de fusão ou entrada. Em 2015, o dolutegravir (DTG) de terceira linha passou a ser incorporado no primeiro esquema devido sua maior barreira genética

às mutações de resistência e trouxe um ganho significativo para a rápida supressão viral (BRASIL, 2018).

Atualmente, o Protocolo clínico e diretriz terapêutica do HIV do Ministério da Saúde determinou que a terapia inicial deve sempre incluir combinações de três antirretrovirais, sendo dois da classe ITRN associados a classe de antirretrovirais (ITRNN, IP/r ou INI). A exemplo, os casos no início de tratamento, devem seguir o esquema inicial preferencial: dois ITRN/ITRNt – lamivudina (3TC) e tenofovir (TDF) – associados ao inibidor de integrase (INI) – dolutegravir (DTG) (tabela 1). Algumas particularidades clínicas apresentadas por PVHA podem alterar a dinâmica de indicação de ARV (Quadro 1) (BRASIL, 2017).

SITUAÇÃO	TERAPIA ANTIRRETROVIRAL	DOSE DIÁRIA	OBSERVAÇÃO
Adultos em início de tratamento^(a)	TDF ^(b) /3TC + DTG ^(c)	(300mg/300mg) "2 x 1"+ 50mg 1x/dia	
Coinfecção TB-HIV^(d) sem critérios de gravidade (conforme critérios elencados abaixo)	TDF ^(b) /3TC/EFV	(300mg/300mg/600mg) – DFC 1x/dia	Concluído o tratamento completo para TB, poderá ser feita a mudança (switch) do EFV para DTG.
Coinfecção TB-HIV com um ou mais dos critérios de gravidade abaixo^(d): LT-CD4+ <100 céls/mm³ Presença de outra infecção oportunista Necessidade de internação hospitalar/ doença grave Tuberculose disseminada	TDF ^(b) /3TC + RAL	(300mg/300mg) "2 x 1" 1x/dia + 400mg 12/12h	Concluído o tratamento completo de TB, deverá ser feita a mudança (switch) do RAL para DTG em até 3 meses

Quadro 1 - Esquema de indicações e terapia antirretroviral combinada. BRASIL, 2018

2.5. Tratamento do HIV no Brasil

A TARV possibilitou o controle da replicação viral e a elevação do número de células T CD4⁺ das PVHA. O acesso crescente à TARV para PVHA foi o principal fator para a redução em 48% de mortes devidas à AIDS. Desde seu advento, a TARV trouxe muitos benefícios, tais como a melhoria da qualidade de vida, redução da morbidade e da mortalidade associadas à AIDS (BASTOS et al., 1995; GRINSZTEJN et al., 2014).

Esses avanços foram maiores devido a estratégia combinada que leva em poucos meses redução da carga viral indetectável ou suprimida. Por isso que a terapia antirretroviral passou a ser iniciada em todos os pacientes independente da contagem de linfócitos CD4⁺. Desde 2014, o Sistema Único de Saúde (SUS) passou a ofertar de forma gratuita a TARV e dessa forma possibilitou que mais de 500 mil pessoas tivesse acesso ao tratamento, tornando o Brasil um país referência mundial (BRASIL, 2018).

O controle da replicação viral e a elevação do número de células T CD4⁺ das PVHA trouxeram muitos benefícios, como melhoria da qualidade de vida, redução da morbidade e da mortalidade associadas à AIDS (GRINSZTEJN et al., 2014).

As novas infecções vêm diminuindo de forma crescente, devido aos esforços mundiais em saúde e incentivo ao tratamento (BRASIL, 2018). Isso possibilitou que ao longo do tempo a morbimortalidade reduzisse e a AIDS de patogenia aguda passasse a ser uma doença crônica com sobrevida prolongada (UNAIDS, 2021).

Em 2022, pelo menos 29,8 milhões de pessoas estavam em TARV. O diagnóstico precoce, ainda possibilitou que as pessoas vivendo com HIV e AIDS (PVHA) tivesse acesso a determinação da sua sorologia em fase inicial da infecção, possibilitando o tratamento de forma precoce (BRASIL, 2022; UNAIDS, 2023).

2.6. Alterações do perfil de morbidade e mortalidade das PVHA com carga viral suprimida devido TARV

As PVHA tratados com TARV efetiva conseguiram com a redução da morbidade e mortalidade aumentar na expectativa de vida. Para as PVHA motivadas para fazer terapia e que têm acesso a tratamento ao longo da vida, as doenças relacionadas com a AIDS já não são mais a principal ameaça. O sucesso da TARV suscitou questionamentos se o fim da AIDS é possível (DEEKS, 2011).

No entanto, surgiu um novo conjunto de complicações associadas ao HIV, resultando numa nova doença crônica que para muitos durará várias décadas de vida. Apesar de melhorar a qualidade de vida devido a supressão viral, o tratamento restaura parcialmente a saúde imunológica que contribui para o aparecimento de complicações associadas à inflamação. Além disso, o efeito cumulativo da exposição a medicamentos antirretrovirais durante décadas combina efeitos tóxicos distúrbios metabólicos clinicamente relevantes e danos a órgãos-alvo (DEEKS, 2011; WING, 2016).

E por fim, um terceiro componente vem adicionar um impacto à vida das PVHA, que é o aumento da expectativa de vida. Nos dias de hoje, estima-se que, em todo o mundo, mais de 10% dos 34,5 milhões de indivíduos soropositivos têm mais de 50 anos. Como essa idade média continuará a aumentar em um ritmo excepcional, eventos associados à idade começaram a surgir tais como as doenças cardiovasculares, renais, neurocognitivas, oncológicas e osteoporóticas (WING, 2016).

Apesar do controle virológico e o avanço da idade das PVHA, os efeitos de uma não restauração completa da imunidade junto com impacto do tratamento de longo prazo e o envelhecimento natural da PVHA vem acarretando uma precocidade dessas doenças em relação à população em geral. Essa combinação tem se manifestado na forma de uma inflamação crônica devido a uma ativação imune persistente (AZAMAR-ALONSO et al., 2021; DOMÍNGUEZ-DOMÍNGUEZ et al., 2022; LEE et al., 2022).

Paradoxalmente, o HIV induz forte respostas imunitárias celulares, tanto no que diz respeito à magnitude como à amplitude. As populações de linfócitos TCD4⁺ e TCD8⁺ entram em estado de hiperativação desde a infecção aguda quanto na. Elas se proliferam rapidamente, no entanto uma meia-vidas curtas. Além disso, existe o impacto de não restauração completa da imunidade ser dependente da demora do PVHA em buscar tratamento. Em outras palavras, a PVHA tem um diagnóstico tardio em um estado inicial de AIDS, ou ele inicia ou reinicia o tratamento com taxas de CD4 muito baixas. Todos eles são referidos como apresentares tardios (AZAMAR-ALONSO et al., 2021; DOMÍNGUEZ-DOMÍNGUEZ et al., 2022; LEE et al., 2022).

A infecção pelo HIV depleta as células T CD4⁺ preferencial e rapidamente nas células residentes nos tecidos das mucosas, porque é um local onde reside um elevado número de células T CD4⁺ de memória ativadas, que são as células-alvo preferido do vírus. Essa depleção compromete a integridade da barreira mucosa intestinal, conhecida como disbiose, que subsequentemente facilita a translocação de produtos microbianos do lúmen intestinal para a corrente sanguínea. Isso tem sido associada como um dos principais mecanismos de geração da inflamação sistêmica e conseqüentemente progressão da doença. Observado tanto em PVHA quanto em macacos infectados pelo SIV (KLATT; FUNDERBURG; BRENCHLEY, 2013; MAVIGNER et al., 2012; MIEDEMA et al., 2013).

Ambos os fenômenos de inflamação crônica e ativação imune persistente consistem na disfunção imunológica que tende a ser maior a medida de quão maior é a depleção da contagem de linfócitos T CD4⁺ antes de início do TARV, assim, a necessidade de um monitoramento e manejo contínuo dessas comorbidades idade-dependente e não relacionadas AIDS

(BOTELHO, 2007; BRUERA et al., 2003; LORENZO-REDONDO et al., 2016; STARUPLINDE et al., 2020; WING, 2016).

2.7. Infecção pelo HIV e o impacto do uso prolongado da TARV na perda óssea

A literatura sobre perda óssea entre PVHA é vasta devido alta da prevalência de osteoporose apesar da melhoria dramática na esperança de vida na era da TARV. Com o aumento da população de PVHA acima de 50 anos, a perda óssea natural ao envelhecimento veio exacerbada com o uso contínuo da TARV e, principalmente, com a inflamação crônica decorrente da infecção pelo HIV (WARRINER; MUGAVERO; OVERTON, 2014a; WEITZMANN, 2017).

No entanto, essas causas atuam de maneira peculiar a cada indivíduo e, resumidamente como foi citado acima, a perda é resultado de vários fatores ligados a própria infecção pelo HIV, ao estilo de vida, à polifarmácia, dentre outros (ABREU et al., 2022; AMOROSA; TEBAS, 2006b; BIVER, 2022; CAERAN et al., 2022; OLIVEIRA et al., 2022; STONE et al., 2010).

Segundo a literatura, as causas da diminuição da mineralização óssea são heterogêneas e peculiares e resultam de: 1) fatores tradicionais: a idade, baixo peso, deficiências metabólicas e hormonais; 2) comportamentais: tabagismo, abuso de álcool e drogas, sedentarismo, problemas dietas (baixa absorção de vitamina D e cálcio); 3) fatores da interação hospedeiro-vírus: proteínas regulatórias do HIV que alteram metabolismo celular inflamação alterando metabolismo ósseo e a TARV (WARRINER; MUGAVERO; OVERTON, 2014).

Dois fatores preponderantes da diminuição da mineralização óssea no HIV são o prolongado tempo de infecção viral e uso da TARV são relatados como alterações osteoarticulares e uma crescente diminuição da DMO. A influência do tempo de infecção viral a mineralização óssea sugere um efeito direto da atividade do vírus pois a perda é acelerada em pacientes com carga viral elevada (BANDER; PARCZEWSKI, 2012).

O HIV afeta não apenas os linfócitos, mas também macrófagos e osteoclastos através de vírus livres de células ou por transferência de célula para célula a partir de células T infectadas. Osteoclastos são células do tecido ósseo que se originam de precursores mononucleados da linha progenitora mielóide. Ao contato com o tecido ósseo, essas progenitoras unem-se para formar os osteoclastos multinucleados. Os osteoclastos infectados pelo HIV expressam citocinas pró-inflamatórias e outras proteínas que atuam na reabsorção óssea, processo pelo qual os osteoclastos quebram o tecido ósseo e liberam os minerais resultando na transferência

de cálcio do tecido ósseo para o sangue. Este fenômeno natural se torna patogênico pelo efeito direto do vírus junto com uma inflamação sistêmica no metabolismo ósseo (BIVER, 2022).

Em relação ao impacto da TARV, o metabolismo ósseo é afetado independentemente de qualquer esquema utilizado (BROWN et al., 2009). O uso contínuo de inibidores de transcriptase reversa da classe de análogos de nucleosídeo timidina e de protease estão associados a reduções na DMO (ASSOUMOU et al., 2013; MONDY et al., 2003; WARRINER; MUGAVERO; OVERTON, 2014).

Um dos medicamentos do esquema antirretroviral inicial de primeira linha mais associado a diminuição da mineralização óssea é o caso do Fumarato de Tenofovir Disoproxil. Atualmente, o Tenofovir também é utilizado no esquema de profilaxia pré-exposição (GRANT; COTTER, 2016; STARUP-LINDE et al., 2020).

Esquemas com TDF mostram uma perda de 1 a 3% maior na DMO comparados a outros esquemas, com aumento dos níveis de marcadores de reabsorção óssea e redução da DMO após 24 semanas. Os mecanismos envolvidos nesse efeito deletério do TDF sobre o osso têm a ver com a hiperfosfatúria devida à disfunção tubular, levando a um quadro de hiperparatireoidismo secundário, osteodistrofia, além da redução dos níveis extracelulares de ATP, o que aumenta a reabsorção óssea (GRANT; COTTER, 2016).

Em relação aos efeitos dos inibidores de protease (IP) sobre a massa óssea, os dados permanecem contraditórios. Alguns estudos mostram alta prevalência de um impacto negativo sobre o metabolismo ósseo, enquanto outros mostram resultados opostos. A perda óssea associada ao uso TARV ocorre logo após o início do tratamento, sendo mais significativa nos 2 primeiros anos após o início do uso e tendendo a estabilizar e atingir um platô cerca de 24 meses após a terapia, no entanto, ao longo do tempo de tratamento com esses inibidores a perda de DMO é estabilizada (STONE et al., 2010; TEICHMANN et al., 2003; TSAI et al., 2014; WARRINER; MUGAVERO; OVERTON, 2014).

A relação perda óssea no início do tratamento é indiscutível, especialmente em relação ao tenofovir devido os efeitos fisiopatológicos citados acima. Até hoje o tenofovir é usado por muitos pacientes, especialmente no Brasil (BRASIL, 2018). Também os estudos evidenciam cada vez mais a estabilização dessa perda óssea após 2 anos de uso. Independente se há consenso ou não, a magnitude das reduções ósseas é maior nos regimes contendo TDF, sugerindo que ele tenha um efeito direto a nível das células ósseas, e/ou indireto, seja atrapalhando o metabolismo da vitamina D e o efeito tóxico a nível renal com uma consequente inflamação (GRANT; COTTER, 2016).

Um aspecto muito importante foi observado por Ofotokun e colaboradores, que a perda óssea durante o início da TARV é muito maior do que a que ocorre pela ação do vírus isoladamente. Segundo os autores, essa perda ocorre devido à reconstituição imune, que é o repovoamento de células T CD4⁺ como um efeito secundário ao uso da TARV. O aumento dessas células e uma contribuição adicional células B e macrófagos contribuem para um aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias RANKL e TNF-alfa que modulam a ação osteoclástica da reabsorção óssea. Portanto, todas essas causas associadas à perda óssea acabam convergindo ao processo de inflamação crônica (OFOTOKUN et al., 2016).

2.8. Metabolismo ósseo e a relação imunoquelética

O osso consiste em uma matriz extracelular composta por uma proteína fibrosa denominada colágeno do tipo I e por uma matriz mineral. Esse colágeno é sintetizado por fibroblastos e por osteoblastos, enquanto a matriz mineral ou inorgânica constituída por hidroxiapatita de cálcio é sintetizada pelos osteoblastos. O osso é um tecido dinâmico e metabolicamente ativo que sofre um processo contínuo de modelagem e de remodelação ósseas. A modelagem é responsável pelo crescimento e adaptação induzida mecanicamente do osso, que corresponde as modificações na sua estrutura devido carga mecânica do corpo. A remodelação óssea é responsável pela remoção e reparação do osso danificado (fratura) a fim de manter a integridade do esqueleto adulto e a homeostase mineral. Ambos os processos são realizados uma população heterogênea de células que compõe a unidade multicelular básica do tecido ósseo constituída por três tipos de células ósseas, os osteoblastos, os osteoclastos e os osteócitos (RAGGATT; PARTRIDGE, 2010).

Os osteoblastos são as células secretoras de colágeno e participam da calcificação da matriz em osso. Eles se desenvolvem a partir de células mesenquimal pluripotentes a partir de fatores regulatórios de transcrição. Os precursores dos osteoblastos se originam na medula óssea e migrem pela circulação que são exclusivamente adaptadas para remover a matriz óssea mineralizada. Eles expressam receptores do hormônio da paratireoide (PTH). O estágio de diferenciação dessas células influencia a contribuição de cada subpopulação na remodelação óssea (RAGGATT; PARTRIDGE, 2010)

Os osteoclastos são responsáveis pela reabsorção óssea. Eles são células terminalmente diferenciadas a partir de precursores mononucleados de linhagem mieloides atraídos para os sítios de reabsorção óssea por produtos parcialmente degradados do osteóide. Essas células possuem características morfológicas e fenotípicas distintas que são rotineiramente usadas para

identificá-las. Eles são células grandes, que surgem pela fusão de células mononucleadas e podem ter até 50 núcleos e inclui a expressão da fosfatase ácida resistente ao tartarato e do receptor de calcitonina. Ela também produz citocinas da resposta imunológica, dentre elas o RANKL que é necessário para a sobrevivência, expansão e diferenciação de células precursoras de osteoclastos (RAGGATT; PARTRIDGE, 2010).

Um terceiro tipo celular, os osteócitos são derivados dos osteoblastos durante a formação óssea. Após a mineralização da matriz óssea, essas células ficam sepultadas no tecido ósseo e formam uma rede que se estende por todo o osso mineralizado. Os osteócitos têm longos processos semelhantes a dendritos que se estendem pelos canalículos (túneis) dentro da matriz mineralizada. Eles são metabolicamente menos ativos, no entanto, eles são altamente abundantes, representando 90-95% de todas as células ósseas. Os osteócitos respondem à carga mecânica, como o peso do corpo e a atividade física (RAGGATT; PARTRIDGE, 2010).

Ambos os processos de remodelação e a modelagem são estreitamente coordenados por células imunológicas envolvidas na fisiologia óssea. A localização anatômica próxima do osso com a medula óssea permite a interação dinâmica entre os sistemas esquelético e imunológico. A influência das células imunes na regulação dinâmica óssea tem sido vista em condições patológicas, tais como doenças autoimunes e distúrbios hormonais. No contexto da biologia óssea, há estudos convergindo uma interface imuno-esquelética, no qual células e citocinas têm papel central nas funções efetoras entre os sistemas esquelético e imunológico (RAGGATT; PARTRIDGE, 2010).

Através de fatores anti-osteoclastogênicos e pró-osteoclastogênicos, o sistema imunológico modula a resposta de osteoblastos, que são responsáveis pela produção de componentes da matriz óssea, em outras palavras, a mineralização da matriz ou formação óssea. Por outro lado, os osteoclastos são responsáveis pela degradação de componentes da matriz óssea, a partir dos processos de absorção e remodelação do tecido ósseo. Fisiologicamente, fatores anti-osteoclastogênicos preservam a massa óssea, enquanto pró-osteoclastogênicos (associados a respostas inflamatórias) promovem a perda óssea (RAGGATT; PARTRIDGE, 2010; WARRINER; MUGAVERO; OVERTON, 2014).

A perda óssea é uma consequência natural do envelhecimento, no entanto, é exacerbado por muitas patologias que afligem muitas pessoas. A osteoporose é uma patologia caracterizada quando a taxa de reabsorção óssea osteoclástica supera a taxa de formação óssea osteoblástica, ocasionando uma perda óssea. Como o osso está constantemente em remodelação num equilíbrio sincronizado entre a reabsorção e a formação, a desregulação desde período inicial da infecção primária e após o início da TARV são responsável perda óssea acelerada e pelas

altas prevalências de osteoporose em PVHA. Nos casos de imunodeficiência ou inflamação de doenças autoimunes, o esqueleto está à mercê de disfunção imunológica pode resultar em danos colaterais graves ao osso tais como a osteoporose e o risco elevado de fratura óssea (COMPSTON, 2016; WEITZMANN, 2017).

Nas inflamações como artrite reumatóide, as células T e células B ativadas secretam fatores pró-osteoclastogênicos, dentre os quais o fator de necrose tumoral-alfa (sigla em inglês: TNF α) que promovem a perda óssea (STONE et al., 2010; WEITZMANN, 2017).

2.9. Desequilíbrio da relação imuno-esquelética na infecção do HIV

No início da infecção pelo HIV ocorrem muitas mudanças no organismo que incluem a depleção maciça de células T no tecido linfóide do trato gastrointestinal, alterações no microbioma intestinal, aumento da translocação bacteriana, ativação imune e inflamação sistêmica (WARRINER; MUGAVERO; OVERTON, 2014).

Com o início da TARV provoca uma perda inicial de DMO e uma certa estabilidade óssea. Como consequência, há a recuperação/reativação das células T CD4⁺ e que envolve uma reconstituição homeostática com expansão deste contingente celular recuperando, de uma certa forma, sua capacidade funcional (CHAN et al., 2016; SHORT et al., 2014; STONE et al., 2010; WEITZMANN, 2017).

A restituição da imunidade adaptativa tem o potencial de produzir ambiente inflamatório que conduz a osteoclastogênese e perda óssea. Adicionalmente, os efeitos diretos da TARV e da ativação imune crônica desempenham um papel significativo no aumento do risco de desenvolver a perda óssea (MEGERSO; GAROMA, 2016; WALKER HARRIS; BROWN, 2012).

Outro fator relacionado ao desequilíbrio da relação imuno-esquelética é o processo de imunossenescência, que se refere ao envelhecimento no sistema imunológico. A imunossenescência é parcialmente responsável pelo aumento da prevalência e gravidade das doenças infecciosas e pela baixa eficácia da vacinação em idosos. A imunossenescência pode ser por fenótipos celulares caracterizados como senescência linfocítica propriamente dita e a exaustão celular (DEEKS, 2011; WEISKOPF; WEINBERGER; GRUBECK-LOEBENSTEIN, 2009).

Fenotipicamente, os linfócitos T senescentes podem ser identificados pela expressão de marcadores de superfície CD28⁻, CD27⁻, CD57⁺ e CD45RA⁺. Em indivíduos idosos, a

diminuição de CD28 tem sido associada à estimulação antigênica persistente e, a cada ciclo de proliferação, sua expressão na superfície celular diminui (ASSOUMOU et al., 2013).

No contexto do HIV, a imunossenescência está relacionada em parte à estimulação persistente do sistema imune causado pela disbiose e translocação microbiana que cria um ambiente inflamatório persistente e permissivo às modificações funcionais das células T citadas acima (NASI et al., 2017). Ativação imunológica a partir da medição de fenótipos de células T CD4⁺ senescentes tem sido visto ser maiores em indivíduos HIV positivos e associados à perda óssea comorbidades (D'ABRAMO et al., 2016).

Outro fenótipo é o de células T regulatórias, elas funcionam limitando a inflamação e restaurando a homeostase imunológica em doenças autoimunes. Nessas doenças, a inflamação crônica mediada pela resposta imune exacerbada leva também a deterioração do osso. Pesquisadores descobriram que os Tregs inibem a diferenciação de osteoclastos via citocinas e via contato direto célula a célula por intermédio do receptor, o antígeno 4 do linfócito T citotóxico (CTLA-4). O CTLA-4 se liga nos correceptores CD80 e CD86 em uma célula apresentadora bloqueando a sinalização coestimulatória nas células T via CD28. Baseado nisso, um derivado farmacológico de CTLA-4 que é um antagonista da co-estimulação CD80/CD28 tem sido usado em modelos experimentais que mostram prevenção ou reversão da perda óssea em camundongos in vivo, por meio de modulação negativa a cascata inflamatória e inibição da osteoclastogênese (ROSER-PAGE et al., 2014, 2018; WEITZMANN, 2013).

2.10. Avaliação da densidade mineral óssea

Do ponto de vista clínico, a identificação de redução óssea é realizada por exame de varredura de densitometria mineral óssea (DMO) usando técnica de absorciometria por raios-X com dupla energia (do inglês *Dual-energy X-ray*, DXA). O exame de DXA tem a finalidade de medir a densidade mineral óssea, detectar perda de massa óssea, estabelecer diagnóstico de osteoporose, avaliar o risco de fraturas, avaliar o tratamento da osteoporose, avaliar fraturas vertebrais e avaliar a composição corporal. O exame é feito no equipamento Lunar iDXA (*GE Healthcare*), que capta imagens dos quadris (Fêmur) e da coluna (Lombar) semelhante à um raio-X, o equipamento de DMO utiliza uma fonte de baixa intensidade radioativa para obter as imagens dos ossos (Figura 7), o exame é indolor e não invasivo, não há cortes dor ou sensação de desconforto (LAMPIGNANO; KENDRICK; DE BONTRAGER, 2015).

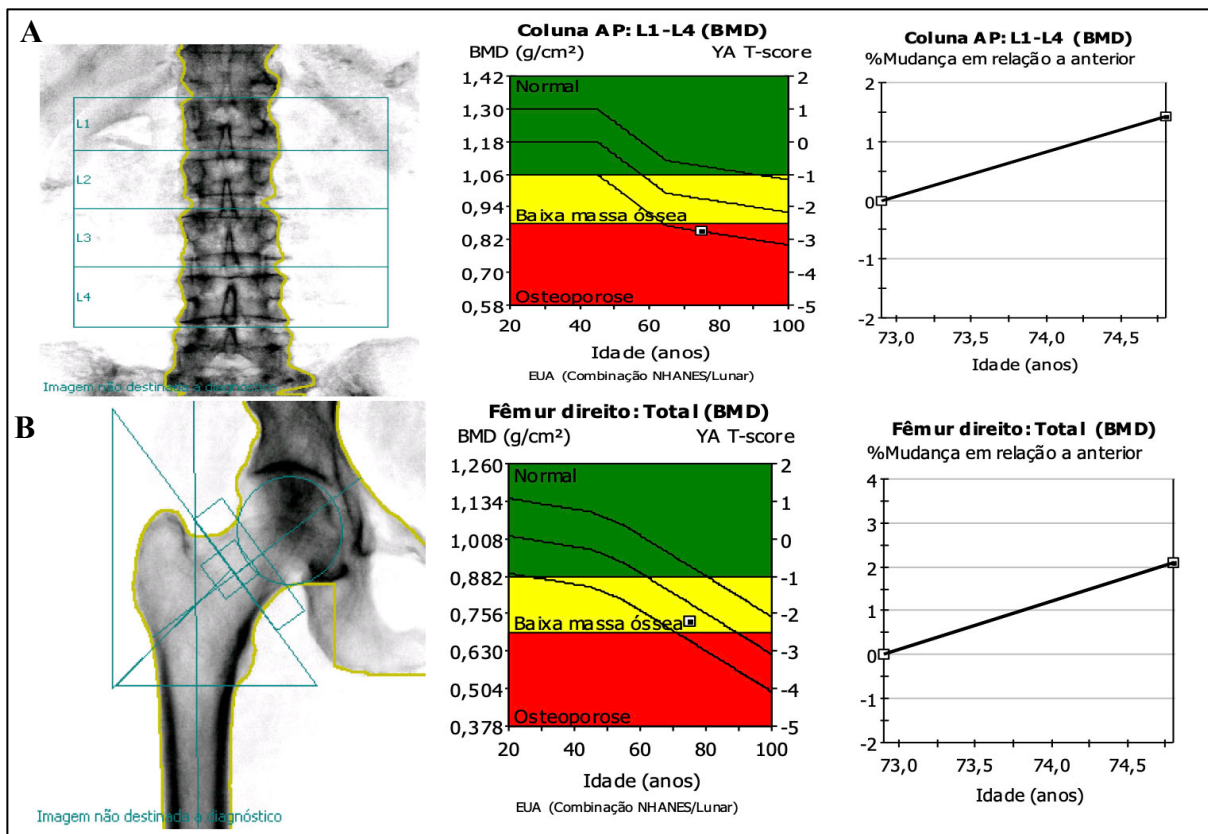


Figura 7 - Imagem do exame de densitometria mineral óssea. A) Imagem da massa óssea da coluna lombar. **B)** Imagem da região proximal do fêmur (adaptado de BONTRAGER; LAMPIGNANO, 2015)

Conforme o consenso da OMS, são calculados as porcentagens relativas e os desvios padrões (DPs) das médias, onde são divididos em dois grupos, o T-Score e o Z-Score. O T-Score é a pontuação da densidade óssea do paciente comparada a adultos jovens do mesmo sexo e etnia, o Z-Score é a pontuação da densidade óssea do paciente comparado com as pessoas da mesma faixa etária, sexo e etnia, ou seja, para crianças, mulheres pré-menopáusicas com menos de 40 anos e homens com menos de 51 anos, o Z-Score deve ser utilizado, para mulheres com ou mais de 40 anos e/ou pós-menopáusicas, e homens com ou mais de 51 anos, o T-Score deve ser usado, os resultados dessas pontuações são classificados conforme tabela abaixo (AYNARDI; ILYAS, 2013; MALLON, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992).

Tabela 2 - Pontuação de T-Score e Z-Score.

TABELA T-SCORE	
Pontuação	Definição
Maior ou igual que -1 DP	Normal
Entre -1 a -2,5 DP	Osteopenia
Menor ou igual que -2,5 DP	Osteoporose
Menor que -2,5 DP (com fratura por fragilidade)	Osteoporose Severa

TABELA Z-SCORE	
Pontuação	Definição
Maior ou igual que -2,0 DP	DMO dentro dos limites esperados para a idade
Menor que -2,0 DP	DMO abaixo do esperado para a idade

BRASIL, 2018.

A cada redução de um desvio padrão na DMO, o risco de fratura aumenta em duas a três vezes. Essa técnica é considerada o padrão-ouro para mensuração da massa corpórea e para avaliação de pacientes com osteoporose, possibilitando assim o seu diagnóstico e seguimento do tratamento (CAREY et al., 2007).

Tais distúrbios ósseos são comumente associados em população em idade mais avançada, mas quando analisamos as PVHA essa perda óssea torna-se mais precoce. Como consequência, a perda da DMO acaba levando um aumento do risco de fraturas nessa população. Poucos estudos avaliam a magnitude da osteoporose em PVHA, bem como as estratégias de triagem nesse segmento (BANDER; PARCZEWSKI, 2012).

2.11. Estudos preliminares da equipe no contexto da perda óssea em PVHA

A osteoporose causa fragilidade óssea e suscetibilidade a fraturas e se tornam cada vez mais comuns em mulheres após os 55 anos e em homens após os 65 anos. A prevalência mundial de osteoporose em mulheres varia de 12 a 23% na população em geral (SALARI et al., 2021).

A DMO diminui rapidamente e cerca de duas vezes nas mulheres em comparação com os homens devido a osteoporose pós-menopausa (BURGE et al., 2007; CUMMINGS; MELTON, 2002; ERLANDSON et al., 2018). No caso específico de mulheres vivendo com HIV (MVH), a incidência de osteoporose e fraturas é mais preocupante porque a transição da menopausa está associada à perda óssea acelerada (CHANG et al., 2021; STARUP-LINDE et al., 2020).

Em todo o mundo, mais mulheres com HIV estão envelhecendo e entrando na menopausa e a meia-idade é uma época de aumento do risco de osteoporose para as mulheres da população em geral. Isso é atribuível ao envelhecimento cronológico e biológico. Em relação as mulheres vivendo com HIV (MVH), há ainda um número limitado de estudos sobre uma avaliação de comorbidades clínicas tais como metabolismo ósseo (STARUP-LINDE et al., 2020).

Em estudo da equipe, dois grupos de mulheres menopausadas foram avaliadas quanto a massa óssea e comparou a prevalência de perda óssea e o risco de fratura no futuro em mulheres vivendo com HIV em relação a um grupo de mulheres menopausadas sem infecção acima de 50 anos. Todas foram submetidas ao exame de densitometria óssea. O estudo elaborou objetivo específico para comparar a prevalência de perda óssea e o risco de fratura no futuro em mulheres vivendo com HIV em relação a um grupo de mulheres menopausadas sem infecção acima de 50 anos submetidas ao exame de densitometria óssea (SILVA et al., 2023).

O estudo avaliou se a infecção pelo HIV em mulheres na pós-menopausa reduziria a densidade óssea e aumenta o risco de fraturas, o estudo comparou esse grupo com um grupo de mulheres não infectadas pareadas por idade. A massa óssea foi comparada na coluna lombar e na região proximal do fêmur. Em relação à coluna lombar, não foram observadas diferenças entre os dois grupos ($p=0,4$, Tabela 3). O valor mediano da densidade mineral óssea (DMO) entre as vértebras L1-L4 das MVH foi de $0,98 \text{ g/cm}^2$ ($0,88 - 1,08 \text{ g/cm}^2$); enquanto, no grupo não infectado, foi de $0,98 \text{ g/cm}^2$ ($0,88 - 1,12 \text{ g/cm}^2$). O T-score também não diferiu ($p=0,2$). Nas MVH, a mediana foi $-1,70$ ($-2,40; -0,88$); enquanto nas não infectadas a mediana foi $-1,60$ ($-2,40; -0,50$). Nesse local, a frequência de osteoporose nas MVH foi de 23% e nas não infectadas foi de 25%, e a frequência de osteopenia foi de 51% e 44%, respectivamente. Apesar dessa pequena diferença em relação à osteopenia, não houve diferença estatística ($p=0,6$, Tabela 3). Embora as frequências de osteoporose e osteopenia não tenham diferido nos dois grupos, a frequência de perda óssea foi altíssima 74% versus 69% das MVH e das mulheres não infectadas ($p=0,5$, Tabela 3). O estudo também foi importante para definir que o período da menopausa foi o fator associado à perda mineral óssea.

Tabela 3 - Comparação da densidade mineral óssea e a probabilidade em 10 de risco de fratura entre mulheres menopausadas vivendo com HIV e mulheres não infectadas.

Característica	MVH #	MNI #	<i>p</i> *
DMO L1-L4 (g/cm ²)	0.98 (0.88, 1.08)	0.98 (0.88, 1.12)	0.4
T score lombar	-1.70 (-2.40, -0.88)	-1.60 (-2.40, -0.50)	0.2
T score lombar			0.6
DMO femoral (g/cm ²)	0.88 (0.81, 0.99)	0.92 (0.82, 1.02)	0.076
T score fêmur	-1.00 (-1.60, -0.38)	-0.70 (-1.50, -0.10)	0.039
Classificação baseada no T score nos dois sítios			0.6
Normal	26 (26%)	31 (31%)	
Osteopenia	51 (51%)	44 (44%)	
Osteoporose	23 (23%)	25 (25%)	
Total	74%	69%	

#Mediana (IQR 25, 75). *Consideramos o valor significativo $P < 0,05$. (SILVA et al., 2023)

Em relação ao contexto dessa dissertação, o estudo mostra em primeiro lugar um diagnóstico da situação da saúde óssea em mulheres residentes em Manaus com idade acima dos 50 anos e que já estão no período pós menopausa. Ambos os grupos apresentam uma alta taxa de perda óssea confirmando o impacto preponderante da menopausa na saúde óssea dessas mulheres. Os fatores tradicionais e associados ao HIV não mostraram associação com a perda maior na região femoral que as mulheres vivendo com HIV apresentaram. Esse estudo preliminar reforça que outros fatores subclínicos possam estar, de maneira silenciosa, afetando o metabolismo ósseo. E por isso, a avaliação da inflamação crônica a partir de marcadores de mais específicos se mostram fundamentais para compreensão do impacto da infecção do HIV na perda óssea. Até o momento, apenas dois estudos avaliaram DMO relacionado à inflamação, ativação imunológica/senescência (D'ABRAMO et al., 2016; GAZZOLA et al., 2013).

Em virtude dos fatos mencionados, investigar a ocorrência da perda óssea em PVHA e comparar perfis de subpopulações de linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ tornam-se importantes para a saúde do sistema imunológico baseado nas subpopulações de células com fenótipos que estão associados aos efeitos de uma inflamação crônica e de senescência celular. Assim, até o momento, este será o primeiro estudo a avaliar a relação entre a perda de DMO com o histórico de contagens de T CD4⁺, avaliação de subpopulações de linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ com fenótipos exaustão, de ativação de senescência.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar subpopulações de linfócitos T associados a perda óssea em pessoas vivendo com HIV com carga viral controlada.

3.2. Objetivos Específicos

Avaliar a densidade mineral óssea PVHA acima de 40 anos de ambos os sexos para determinar a prevalência no grupo amostral.

Descrever as características clínicas, hematológicas e bioquímicas dessas pessoas de acordo com a classificação da densidade mineral óssea em normal e perda óssea (osteopenia/osteoporose).

Investigar perfis fenotípicos de subpopulações de linfócitos TCD4⁺ e TCD8⁺ associados a perda óssea em PVHA.

4. METODOLOGIA

4.1. Aspectos éticos

A aprovação ética do estudo foi concedida pelo Comitê de Ética da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), sob CAAE: 35104620.8.0000.0005 e número de parecer: 4.936.395, que faz parte de um projeto maior intitulado: *AValiação DA DENSIDADE MINERAL ÓSSEA E COMPOSIÇÃO CORPORAL EM PESSOAS QUE VIVEM COM HIV* atendidos na Fundação de Medicina Tropical (FMT-HVD), Manaus, Estado do Amazonas. (ANEXO 1). Após aplicação dos critérios de elegibilidade, foi solicitada a autorização dos pacientes ou de seus responsáveis para a inclusão no estudo, formalizada mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO 2).

4.2. Tipo de Pesquisa

Trata-se de um estudo observacional e transversal com PVHA.

4.3. Local do Estudo

O recrutamento dos pacientes foi realizado no ambulatório de retrovirologia humana da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), centro de referência para o tratamento de doenças infectocontagiosas na Região Norte, o processamento e as análises foram desenvolvidos no laboratório da Unidade de Pesquisa Clínica Carlos Borborema (UPCCB).

4.4. População de estudo

A população de estudo representa PVHA com idade acima de 40 anos e que foram atendidas no ambulatório de retrovirologia humana da FMT-HVD, no período de agosto/2021 a fevereiro/2023.

4.5. Critérios de inclusão, não inclusão e exclusão

Critérios de inclusão: PVHA com comprovação sorológica, idade acima 40 anos, de ambos os sexos, com carga viral indetectável e atendidos no ambulatório de retrovirologia humana na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD).

Critérios de não-inclusão: mulheres PVHA grávidas, pessoas que não apresentam comprovação sorológica para HIV, com idade abaixo de 39 anos e que apresentam incapacidade de manter o decúbito pelo tempo necessário para a realização do exame de densitometria óssea.

Critérios de exclusão: amostras com viabilidade menor que 90% após o isolamento das células mononucleares, amostras com viabilidade menor que 85% após o descongelamento das amostras para imunofenotipagem e paciente que não realizou o exame de densitometria óssea.

4.6. Coleta de amostras

Após aplicação do questionário presente na ficha de coleta (ANEXO 3), as amostras de sangue venoso periférico foram coletadas em três tubos: dois tubos contendo heparina (BD *Vacutainer*®) com 9 mL de sangue para Isolamento de PBMC, outro tubo com ácido etilenodiamino tetracético – EDTA (BD *Vacutainer*® K2) com 2 mL de sangue para análises hematológicas e obtenção do plasma.

4.7. Análise Hematológica

Para realização do hemograma as amostras foram coletadas no tubo de EDTA e avaliados os seguintes parâmetros: Contagem de hemácias (RBC), Hemoglobina (Hb), Hematócrito (HTC), Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), Amplitude de Distribuição Eritrocitária (RDW), contagem de leucócitos, neutrófilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos, Plaquetas (PLT), Volume Plaquetário Médio (VPM) e Amplitude de Distribuição Plaquetária (PDW). Para avaliação destes parâmetros utilizou-se o analisador Sysmex Kx-21N (*Sysmex Corporation*-Japão), devidamente calibrado.

4.8. Coleta dos dados clínicos

Todo o histórico clínico dos pacientes foi obtido através do sistema de prontuário eletrônico (*iDoctor* versão 1.0.69b86), e foram coletados os dados clínicos de comorbidades, frequência de internações, tratamento e estado de saúde geral. Foi obtido também dados laboratoriais de sorologia, carga viral, contagem de células TCD4⁺/TCD8⁺ e marcadores bioquímicos.

4.9. Isolamento de Células Mononucleares do Sangue Periférico (PBMC)

5.1.1 Separação e armazenamento das células

As amostras coletadas em tubo de heparina 9 mL seguiram para o processo de separação das células, este foi realizado através de centrifugação do sangue periférico com gradiente por densidade - Ficoll® Paque Plus (*Sigma-Aldrich*®). Em tubos falcon (*Kasvi*®) de 50 mL foi adicionado a quantidade de ficoll desejada e em seguida colocamos lentamente a mesma quantidade de sangue. Foi centrifugado a 500xg por 20 minutos em temperatura de 20°C em baixa aceleração e sem freio. Após, com o auxílio de uma pipeta, foi retirado o anel de células seguido de lavagens com *Phosphate buffered saline* 1x – (PBS-1x) (*Sigma-Aldrich*®) e centrifugação a 500xg com baixa aceleração e freio por duas vezes, em seguida, as células foram ressuspensas em 1 mL de PBS-1x para contagem (TURNER et al., 2020).

A contagem e viabilidade das células foi realizada através da coloração com a solução de *Trypan Blue* a 0,4% (*Sigma-Aldrich*®), 10 uL da ressuspensão com 90 uL de *Trypan Blue* e após homogeneização, as células foram observadas nos quatro quadrantes da câmara de Neubauer. As células viáveis e não viáveis foram contadas utilizando microscópio de luz em objetivas de 10x. Os cálculos seguiram conforme estabelecido no protocolo do laboratório.

FÓRMULAS	
Concentração de células viáveis/mL	$\frac{\text{Número Total de células viáveis (A+B+C+D)}}{4 \text{ (número de quadrantes contados)}} \times 10^4 \text{ (Fator de correção)} \times 10 \text{ (Fator de Diluição)}$
Número total de células viáveis	$\text{Concentração de células viáveis/mL} \times 10 \text{ (volume da suspensão de células)}$
Porcentagem de viabilidade celular	$\frac{\text{Número total de célula viáveis} \times 100}{\text{(Número total de células viáveis + Número total de células mortas)}}$
Volume da solução de congelamento (mL)	$\frac{\text{Número total de célula viáveis}}{5 \times 10^6}$

Quadro 2 - Fórmulas utilizadas para isolamento de PBMC.

Para o congelamento das células, foi preparado uma solução específica com 90% Soro Fetal Bovino – SBF (*Gibco® - Thermo Scientific™*) e 10% Dimetilsulfóxido – DMSO. Em seguida, conforme o volume definido pelo cálculo acima (concentração de 5×10^6 células/mL) as células foram ressuspensas em solução de congelamento e colocadas em tubos criogênicos (*Corning®*) dentro do *Mr. Frosty™ Freezing Container (Thermo Scientific™)* e armazenadas em freezer de -80°C por 24 horas, em seguida, os tubos foram transferidos para as caixas identificadas destinadas ao projeto para armazenamento de PBMC no freezer -80°C . Todas as amostras congeladas estavam com viabilidade celular igual ou superior a 90% e seguiram de acordo com protocolo estabelecido pelo laboratório.

5.1.2 Descongelamento de PBMCs

O descongelamento das alíquotas foi gradativo e sem interferências, as lavagens foram realizadas com meio *Roswell Park Memorial Institute* – RPMI 1640 Medium (*Gibco*® - *Thermo Scientific*™) e Soro Fetal Bovino – SBF (*Gibco*® - *Thermo Scientific*™) a 10% em temperatura a 37°C e centrifugação a 1500rpm por 10 minutos com o objetivo de retirar o Dimetilsulfóxido - DMSO (*Sigma-Aldrich*®) (TURNER et al., 2020).

Após o descongelamento, a contagem foi realizada através da coloração de *Trypan Blue* (*Sigma-Aldrich*®) na câmara de Neubauer, a leitura foi em microscópio de luz em objetiva de 10x. As alíquotas com viabilidade acima de 85% seguiram para a imunofenotipagem.

5.2 Imunofenotipagem de subpopulações de leucócitos com marcação de superfície e intracelular

Para identificação da população de linfócitos TCD4⁺ foram utilizados os anticorpos monoclonais de superfície: anti-CD3, anti-CD4, anti-CD69, anti-CTLA-4 e anti-HLA-DR, os anticorpos monoclonais intracitoplasmáticos foram: anti-Ki-67, anti-IFN γ e anti-TNF α e anti-IL-10 (em cinza). E para a população de linfócitos TCD8⁺ foram utilizados os anticorpos monoclonais de superfície: anti-CD3, anti-CD8, anti-CD69, anti-PD-1 e anti-HLA-DR, os anticorpos monoclonais intracitoplasmático foram: anti-Ki-67, anti-IFN γ e ani-IL-10 (em cinza). Os anticorpos utilizados estão descritos no quadro 3.

FLUORÓFORO	FITC	PE	PERCP	PECy7	APC	APC-H7
PAINEL 1	CD4	IFN γ	CD3	TNF α		CTLA-4
PAINEL 2	CD8	IFN γ	CD3			PD-1
PAINEL 3	CD8	CD69	CD3		IL-10	PD-1
PAINEL 4	CD4	CD69	CD3		IL-10	CTLA-4
PAINEL 5	CD8	HLA-DR	CD3		Ki-67	PD-1
PAINEL 6	CD4	HLA-DR	CD3		Ki-67	CTLA-4

Quadro 3 – Anticorpos monoclonais. Paineis com anticorpos e o fluoróforo para caracterização fenotípica das populações de células do sangue periférico. Em cinza os anticorpos intracitoplasmáticos.

Logo após o descongelamento de PBMC, as células foram colocadas em tubos de citometria previamente identificados. Foi realizada a lavagem com PBS-W (0,5% Albumina e 0,02% de azida sódica) por centrifugação a 10 minutos a 1500 rpm em temperatura de 20°C.

Após, obteve-se um pellet celular sendo realizada a marcação de superfície com anticorpos monoclonais e incubação por 30 minutos ao abrigo de luz. Em seguida, a lise dos eritrócitos ocorreu por homogeneização no vórtex usando 1 mL de solução de lise [0,285 g/L Citrato de Sódio, 5,4 mL/L de Formaldeído P.A., 3 mL/L de Dietileno Glicol P.A., 80 µL/L de Heparina comercial (5000UI/mL)] as células foram incubadas por 10 minutos e as lavagens realizadas com PBS-W.

Para marcações intracitoplasmáticas, as células passaram pela etapa de permeabilização com solução PBS-P (0,5% Albumina 0,5% Saponina) por 10 minutos, após esse tempo foi realizado a centrifugação por 10 minutos a 1500 rpm em temperatura de 20 °C, uma lavagem com PBS-P e outra com PBS-W. Em seguida, as amostras já marcadas com anticorpos de superfície, foram marcadas durante 30 minutos ao abrigo de luz com os anticorpos intracitoplasmáticos IL-10, IFN-gama (IFN γ) e TNF-alfa (TNF α). Por fim, foi realizada a última lavagem e ressuspensão com 100uL de PBS-W para leitura na citometria de fluxo.

5.2.1 Leitura e análise das marcações

Após o final das marcações as amostras seguiram para análise, a aquisição de 100.000 eventos foi realizada no equipamento FACSCanto®II. Os resultados foram analisados no software FlowJo pela plataforma de citometria de fluxo da FIOCRUZ.

Para as análises, foi determinado gráficos de tamanho (FCS – *forward scatter*) por granulosidade (SSC – *side scatter*), e delimitou-se por uma *gate* a população que possuía os parâmetros característicos de linfócitos. Analisou-se a população alvo em linfócitos T CD3⁺CD4⁺ e CD3⁺CD8⁺, dentro dessas populações serão delimitadas as marcações dos anticorpos de superfície e intracitoplasmático. Verificou-se nessas análises a média de intensidade de fluorescência (MIF) e a porcentagem das células nas populações alvo (Figura 10).

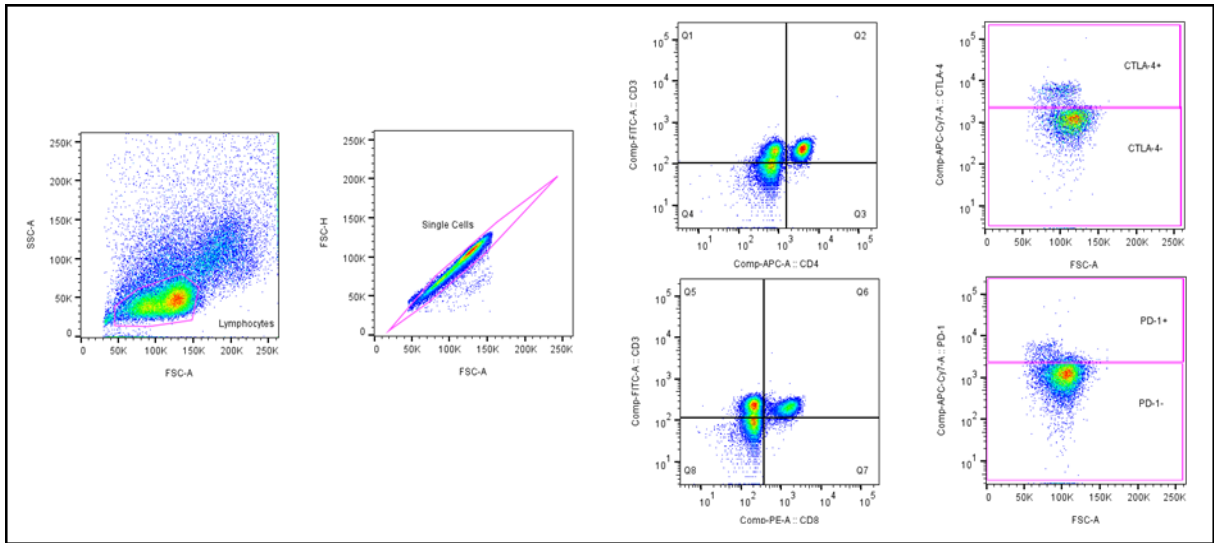


Figura 8 - Determinação das subpopulações de linfócitos T CD4⁺ T CD8⁺. Determinação da gate de linfócitos definido por tamanho (FSC-A) e granulosidade (SSC-A), em seguida a determinação de single cells por FSC-H e FSC-A, a classificação das populações de linfócitos T CD4⁺ (CD3⁺CD4⁺) e TCD8⁺ (CD3⁺CD8⁺), dentro de linfócitos T CD4⁺, marcação de CTLA-4⁺ e CTLA-4⁻ e em linfócitos T CD8⁺, marcação de PD-1⁺ e PD-1⁻.

5.3 Amostras e dados secundários de grupo de PVHA internados na FMT-HVD.

Amostras de plasmáticas de 50 PVHA hospitalizadas que estavam armazenadas no biorrepositório do Laboratório DCDIA localizado na FMT-HVD, foram utilizadas nesse estudo para comparação dos níveis do marcador CD14 solúvel (sCD14). Essas amostras fazem parte do estudo “Disfunção de Subpopulações de Linfócitos B em Pessoas Vivendo com HIV/AIDS Internados na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado”, aprovado pelo número de parecer: 3.345.985 e CAAE: 89665118.6.0000.0005.

5.4 Dosagem de CD14 solúvel (sCD14).

Para comparação do estado inflamatório desses pacientes, foi feito a dosagem dos níveis séricos de CD14 solúvel presente no plasma. As amostras foram centrifugadas a 20°C a 1500rpm por 10 minutos para separação do plasma. O CD14 solúvel presente no plasma das PVHA de DMO e dos pacientes PVHA hospitalizados, foram quantificados por *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) – Human CD14 Matched Antibody Pair Kit – ABCAM.

5.5 Plano de análises de dados

Os dados preliminares foram tabulados em banco de dados criado pela Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado – (FMT-HVD), *iDoctor - versão 1.0.69b86*. Para análise dos dados, foi feita a análise descritiva com média e desvio padrão, ou mediana e intervalos interquartil (IQR). Os dados foram analisados no software STATA (versão 13.0), os resultados foram considerados estatisticamente significativos até $P < 0,05$.

Todas as análises dos dados obedeceram às pressuposições de cada teste. As análises foram realizadas usando o GraphPad Prism (versão 9.0.2), para comparação entre dois grupos foi utilizado teste de Mann-Whitney, e nas comparações entre os três grupos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis.

5. RESULTADOS

5.1. Características demográficas e epidemiológicas dos pacientes

Entre agosto/2021 e fevereiro/2023, 50 PVHA foram atendidas e recrutadas por conveniência em um ambulatório de retrovirologia humana da FMT-HVD, denominado fragilidade, que especificamente é direcionado ao atendimento PVHA com sinais de uma síndrome de fragilidade impactante sobre a saúde que compromete a capacidade funcional das pessoas e que vem associado com a presença de comorbidades. Como mencionado acima, após o advento da TARV e o aumento da expectativa de vida das PVHA com idade superior a 50 anos, essa síndrome de fragilidade vem se tornando cada vez mais prevalente. Para a realização deste estudo, o ambulatório de fragilidade recrutou as PVHA a partir de uma idade menor, ou seja, a partir de 40 anos por entender que a síndrome se manifesta silenciosamente e de maneira precoce.

O ambulatório recrutou 50 PVHA a partir de 40 anos para a participação do estudo e da realização do exame de DMO. Quarenta e oito participantes do estudo voltaram com o exame feito e por isso foi realizado a coleta de sangue. Em relação a classificação do exame de DMO a ser avaliado conforme faixa etária, 43 se enquadravam como T-score em razão de serem homens acima de 50 anos ou mulheres acima de 50 e/ou menopausadas, enquanto 5 foram classificados com Z-score por ter idade entre 40 e 49 anos (tabela 6).

De acordo com o resultado do exame de densitometria óssea, dos 48 participantes do estudo, 12 foram classificados em normal, 23 foram classificados com osteopenia e 13 foram classificados com osteoporose em pelo menos um dos locais avaliados (fêmur ou lombar). A predominância foi do sexo masculino, 28 homens e 20 mulheres (tabela 6). A média de idade em cada grupo mostra que o grupo com osteoporose foi mais velho, enquanto os dois grupos normal e osteopenia não diferem na idade.

Resumidamente, o resultado confirma que a idade é um fator preponderante à perda óssea. No recrutamento por conveniência 58,3% das PVHA com indicação para avaliação óssea foram do sexo masculino (28/48). A avaliação baseada na classificação da DMO do indivíduo pela faixa etária, e a amostragem em T-score foi mais equilibrada, 23 homens versus 20 mulheres, e verifica-se tendência maior de mulheres com osteoporose em relação aos homens ($p=0.048$). Como todas estavam em menopausa, observa-se o impacto da hipoestrogenemia na evolução da perda óssea para osteoporose em comparação aos homens.

Em relação as PVHA na faixa etária de Z-score, foram classificados apenas 5 homens, esses sinais clínicos de fragilidade observados no atendimento do ambulatório de fragilidade ocorrem com uma precocidade nos homens, embora a amostragem seja pequena, podemos observar sinais de fragilidade ao ponto de terem sido convidados a participar do estudo.

Tabela 4 - Características clínicas e gerais da população do estudo que realizaram DMO.

	Normal (N=12)		Osteopenia (N=23)		Osteoporose (N=13)	
	N	%	N	%	N	%
Sexo						
Masculino	11	(83,3)	14	(60,8)	4	(30,7)
Feminino	1	(16,7)	9	(39,2)	9	(69,3)
Classificação da DMO						
T-Score	9	(75,0)	21	(91,3)	13	(100)
Z-Score	3	(25,0)	2	(8,7)	-	
Internação*						
Sim	1	(8,3)	3	(13,1)	3	(23,1)
Não	11	(91,7)	20	(86,9)	10	(76,9)
Comorbidades						
Nenhum	7	(58,3)	13	(56,5)	7	(53,8)
HAS	2	(16,6)	7	(30,4)	3	(23,0)
Diabetes	2	(16,6)	5	(21,7)	3	(23,0)
Cardiopatia	1	(8,3)	3	(13,0)	-	-
Hipertireoidismo	-	-	1	(4,3)	-	-
Hipotireoidismo	1	(8,3)	-		1	(7,6)
Classificação IMC						
Normal	1	(8,4)	8	(34,7)	5	(38,5)
Sobrepeso	5	(41,6)	12	(52,1)	6	(46,2)
Obesidade	6	(50,0)	3	(13,2)	2	(15,3)

HAS: Hipertensão arterial sistêmica; IMC: Índice de massa corporal; *Internação dentro de um período de 5 anos.

Em relação a internação, em ambos os grupos, a maioria não teve internações dentro de um período de 5 anos, foi observado que em ambos os grupos, a maioria dos participantes não tinham nenhuma comorbidade, entretanto alguns participantes apresentaram comorbidades concomitantes, e na classificação do IMC, todos os participantes em ambos os grupos, já estavam em sobrepeso.

Os 48 participantes que realizaram o exame de DMO e retornaram à consulta, foram encaminhados para coleta de sangue periférico visando a separação de PBMC e do plasma. As amostras foram criopreservadas em -80°C. A figura 11 mostra um fluxograma para melhor compreensão de como as amostras foram selecionadas para avaliação da imunofenotipagem.

Das 48 amostras, 14 amostras apresentaram viabilidade menor que 85% após o descongelamento do PBMC e foram excluídas de acordo com o critério de exclusão, a maioria das amostras foram classificadas em osteoporose e foram do sexo feminino, ficando inviável a comparação de osteoporose com o sexo masculino, então optamos por não fazer as análises das 4 amostras do sexo masculino que foram classificadas em osteoporose, assim apenas 30 amostras seguiram para imunofenotipagem e em seguida as análises dos resultados.

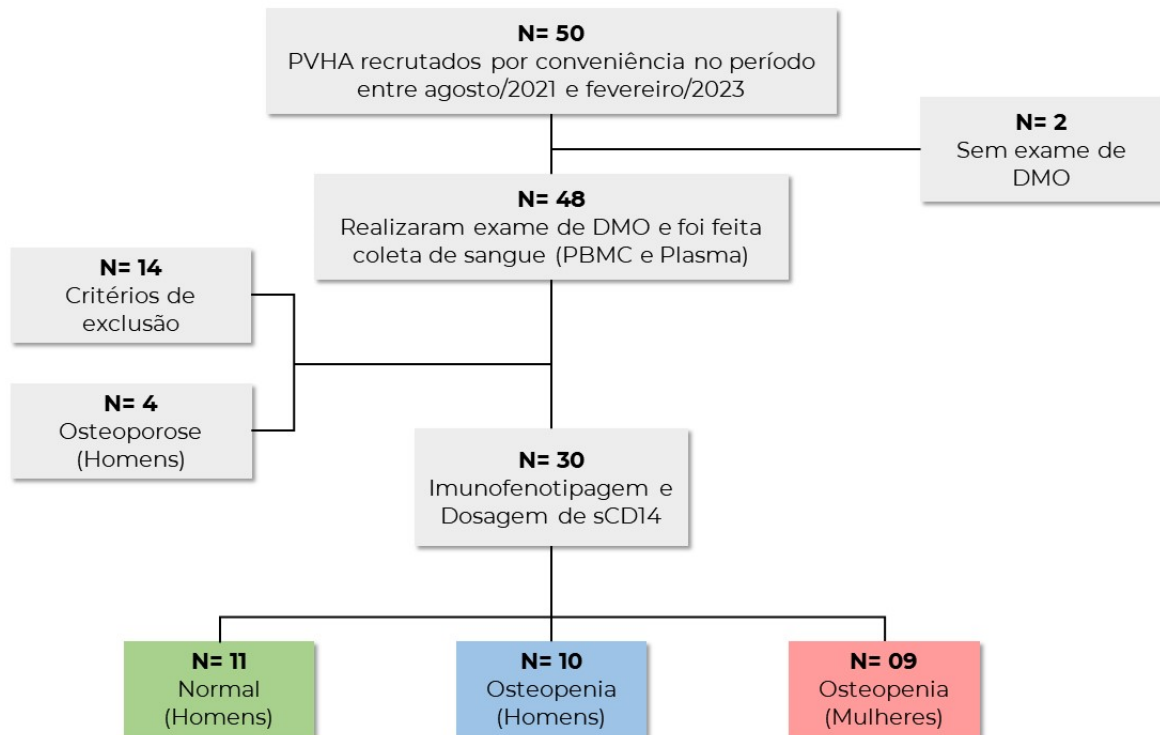


Figura 9 - Fluxograma da inclusão e processamento das amostras dos pacientes. Etapas das amostras dos participantes deste a coleta até as análises dos resultados.

Das 30 amostras que foram submetidas a imunofenotipagem de linfócitos TCD4⁺ e TCD8⁺, 21 eram de homens e 9 de mulheres. As análises foram realizadas levando em consideração idade, sexo e menopausa.

5.2. Disfunção imunológica pela avaliação de subpopulações de linfócitos TCD4⁺ e TCD8⁺ em PVHA com e sem perda óssea

Como referenciado acima, há um consenso sobre a influência da inflamação crônica na perda óssea em diferentes patologias e desordens (como é o caso da hipostrogenemia). Além do tempo da infecção pelo vírus, outros fatores relacionados ao estilo de vida e tempo de tratamento com a TARV influenciam a perda óssea. Tem sido crescente a avaliação da

disfunção imunológica do ponto de vista dos perfis de células T e a sua correlação com citocinas pró-inflamatórias como parte essencial na inflamação crônica.

No entanto, a complexidade da saúde óssea depende de fatores biológicos naturais como idade, sexo e menopausa. A análise foi realizada excluindo a idade como fator confundidor e para isso, 11 homens classificados como T-score e com laudo normal no exame de DMO foram comparados com outros 10 homens e 9 mulheres com T-score que tiveram o laudo de osteopenia no exame de DMO.

Foi comparado inicialmente os fatores relacionados à infecção pelo HIV (Tabela 5), e em relação a idade, ambos os grupos não diferem na mediana. Em relação ao tempo de uso TARV, não há diferença entre os três grupos, embora haja uma tendência de menor tempo de TARV no grupo normal.

Nos parâmetros associados à infecção pelo HIV, como a carga viral e contagem de células TCD4⁺ e TCD8⁺, os grupos não diferem na carga viral antes do início da terapia antirretroviral e nem nas primeiras contagens de linfócitos TCD4⁺ e TCD8⁺ (Tabela 5). Assim, a não diferença estatística indica que o tempo de infecção até o diagnóstico e início do tratamento não diferiram entre os três grupos.

Tabela 5 - Características clínicas da população analisada separados por grupos.

	Normal (N=11) Mediana (IQR)	Osteopenia (N=10) Mediana (IQR)	Osteopenia (N=9) Mediana (IQR)	p valor
Idade	52 (50-62)	56 (51-64)	53 (53-65)	0.414
Tempo de TARV	9 (7-13)	14 (11-16)	13 (11-14)	0.065
Primeira CV	54.068 (12.508 -68.511)	12.966 (7.599-14.053)	16.315 (12.815-23.277)	0.588
Primeiro CD4⁺	212 (91-626)	402 (191-723)	224 (142-363)	0.314
Primeiro CD8⁺	909 (719-1100)	804 (465-905)	850 (690-1064)	0.251
Último CD4⁺	646 (583-762)	578 (434-886)	575 (414-683)	0.314
Último CD8⁺	1.014 (665-1.748)	690 (468-964)	692 (473-1.035)	0.132
Razão CD4⁺ e CD8⁺	0.70 (0.60 - 1.00)	0.95 (0.57-1.25)	0.83 (0.72-1.02)	0.375

Tempo de TARV: uso da Terapia antirretroviral em anos; CV: carga viral

Como outros possíveis fatores, os dados laboratoriais hematológicos obtidos com validade de 6 meses foram usados na análise univariada comparativa (Tabela 6). Nos dados hematológicos foi observado uma diferença significativa nas hemácias e no hematócrito, entretanto em ambos os grupos a mediana ficou dentro dos valores de referência. Da mesma forma foi realizado avaliação dos dados bioquímicos com validade de 6 meses (Tabela 7). De todos os marcadores bioquímicos, apenas o magnésio apresentou diferença significativa nos

grupos normal e osteopenia em mulheres, entretanto nos dois grupos a mediana se manteve dentro dos valores de referência. Observou-se que o LDL, assim como a hemoglobina glicada e a glicose em ambos os grupos, estavam acima dos valores normais de referência.

Assim como a mediana da Gama GT no grupo normal também mostrou estar mais elevada que o valor de referência, e que a vitamina D em ambos os grupos com osteopenia tanto em homens como nas mulheres, estava abaixo dos valores normais de referência, e como foi mencionado nos parâmetros hematológicos, não podemos examinar e nem correlacionar com exatidão esses parâmetros com a perda óssea, justamente por se tratar de um número amostral pequeno, entretanto as pessoas deste estudo estavam clinicamente estáveis.

E embora outros marcadores hematológicos como o MPV que apresentou mediana abaixo dos valores normais de referência e o PDW apresentando mediana acima dos valores de referência entre os grupos. É importante salientar que MPV e PDW, são marcadores de alteração da morfologia de plaquetas, e importantes para avaliação do estado inflamatório do paciente.

Tabela 6 - Análises hematológicas entre PVHA normais e osteopênicas.

Parâmetros hematológicos	Referência	Normal	Osteopenia (Homens)	Osteopenia (Mulheres)	<i>p</i>
		(N=11) Mediana (IQR)	(N=10) Mediana (IQR)	(N=09) Mediana (IQR)	
Hemácias (milhões/mm ³)	4.2-5.5	4.6 (4.4-5.0)	4.4 (4.2-5.0)	4.2 (3.9-4.3)	0.006
Hemoglobina (g/dL)	12.5-15.5	14.54 (13.66-15.67)	14.17 (13.29-15.53)	13.29 (12.76-14.31)	0.582
Hematócrito (%)	36.0-47.0	43.13 (41.80-46.14)	42.83 (39.47-45.01)	39.47 (31.23-42.21)	0.034
VCM (fl)	80.0-100.0	92.70 (89.02-96.60)	94.80 (91.30-98.50)	94.15 (91.25-99.60)	0.411
HCM (pg)	27.0-32.0	31.80 (30.30-33.60)	30.0 (29.93-32.40)	31.82 (29.87-32.95)	0.366
CHCM (g/dl)	32.0-36.0	33.60 (32.70-34.10)	33.12 (32.53-33.73)	32.82 (32.45-33.50)	0.689
RDW (%)	10.0-15.0	12.44 (11.90-12.70)	12.74 (12.03-13.49)	12.60 (11.99-13.30)	0.060
Leucócitos (x10 ³ cél./mm ³)	4.0-10	7.3 (5.6-7.6)	7.1 (5.5-8.1)	6.3 (5.3-8.5)	0.631
Neutrófilos (x10 ³ cél./mm ³)	2-7	3.5 (2.9-5.4)	3.9 (2.7-4.7)	2.7 (2.5-3.7)	0.299
Linfócitos (x10 ³ cél./mm ³)	1-3	1.7 (1.4-2.7)	2.1 (1.7-2.5)	2.2 (1.7-2.5)	0.732
Monócitos (cél./mm ³)	200-1.000	612 (535-678)	498 (437-649)	449 (363-569)	0.237
Eosinófilos (cél./mm ³)	20-500	180 (107-293)	121 (85-223)	101 (64-188)	0.197
Plaquetas (x10 ³ /mm ³)	150-450	237.2 (157.8-280.5)	202.4 (179.4-244.4)	201.8 (182.4-242.1)	0.891
MPV (fl)	7.4-10.4	6.61 (5.96-7.27)	7.42 (6.58-8.28)	6.88 (6.23-24.2)	0.856
PDW (%)	10-18	19.66 (19.17-20.26)	19.79 (19.09-20.53)	19.58 (18.80-20.21)	0.261

Análise de Teste T não paramétrico de Mann Whitney. VCM: Volume Corpuscular Médio; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM: Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos (do inglês: Red Cell Distribution With); MPV: Volume Plaquetário Médio (do inglês: Mean Platelet Volume) e PDW: Amplitude de Distribuição Plaquetária (do inglês: Platelet Distribution Width).

Tabela 7 - Análises bioquímicas entre PVHA normais e osteopênicas.

Parâmetros bioquímicos	Referência	Normal	Osteopenia (Homens)	Osteopenia (Mulheres)	p
		(N=11) Mediana (IQR)	(N=10) Mediana (IQR)	(N=9) Mediana (IQR)	
Amilase (U/L)	5-125	63 (48-75)	92 (77-116)	87 (77-111)	0.364
Bilirrubina Total (mg/dL)	0.01-1.3	0.69 (0.42-0.84)	0.54 (0.39-0.66)	0.52 (0.38-0.66)	0.182
Bilirrubina Direta (mg/dL)	0.01-0.30	0.18 (0.11-0.24)	0.15 (0.09-0.17)	0.14 (0.08-0.16)	0.135
Bilirrubina Indireta (mg/dL)	0.01-0.70	0.44 (0.30-0.61)	0.39 (0.30-0.47)	0.33 (0.30-0.52)	0.232
LDL (mg/dL)	10-100	101 (79-156)	113 (101-142)	123 (100-155)	0.393
HDL (mg/dL)	30-70	39 (36-44)	40 (35-43)	47 (34-55)	0.051
Creatinina (mg/dL)	0.5-1.2	1.1 (1.0-1.3)	1.0 (0.9-1.2)	0.9 (0.8-1.2)	0.296
Cálcio (mg/dL)	8.5-10.5	9.6 (9.5-10.1)	9.8 (9.4-10.1)	9.8 (9.7-10.2)	0.730
DHL (U/μL)	211-423	362 (331-394)	390 (343-454)	411 (378-467)	0.474
Ferro (mg/dL)	50-175	95 (51-111)	82 (69-95)	86 (60-104)	0.548
Hemoglobina Glicada (%)	4.8-5.9	6.15 (5.56-6.32)	6.04 (5.54-6.32)	6.17 (5.46-7.77)	0.587
Ácido Úrico (mg/dL)	2.0-6.0	5.0 (4.6-5.5)	4.9 (4.0-6.5)	4.3 (3.3-4.9)	0.841
Albumina (g/dL)	3.5-5.0	4.3 (4.2-4.5)	4.4 (4.2-4.5)	4.3 (3.6-4.5)	0.288
Fosfatase alcalina (U/L)	65-300	214 (201-268)	237 (207-307)	265 (213-396)	0.345
Gama GT (U/L)	5-45	58 (25-73)	32 (26-50)	44 (27-50)	0.296
Glicose (mg/dL)	70-100	118 (98-128)	103 (94-119)	119 (98-181)	0.099
Magnésio (mg/dL)	1.3-2.5	2.1 (2.0-2.2)	2.2 (2.1-2.3)	2.2 (2.1-2.4)	0.038
Potássio (mEq/L)	3.6-5.2	4.3 (4.2-4.5)	4.3 (4.0-4.8)	4.3 (4.2-4.9)	0.662
Sódio (mEq/L)	135-145	140 (139-141)	141 (139-143)	143 (137-144)	0.304
TGO (U/μL)	2-38	24 (20-27)	27 (21-34)	24 (16-35)	0.696
TGP (U/μL)	2-44	28 (21-44)	31 (20-40)	31 (16-40)	0.594
Fosforo (mg/dL)	2.5-4.5	3.4 (3.3-3.6)	3.5 (3.3-4.2)	3.5 (4.5-4.0)	0.483
Vitamina D (ng/mL)	30-100	31.1 (22.6-35.1)	29.1 (26.4-38.0)	26.6 (24.2-33.9)	0.508
Triglicerídeos (mg/dL)	0-200	164 (110-366)	173 (127-210)	176 (150-288)	0.247

Análise de Teste T não paramétrico de Mann Whitney

Abreviação: LDL: Lipoproteínas de Baixa Densidade (do inglês: *Low-Density Lipoprotein*); HDL: Lipoproteínas de Alta Densidade (do inglês: *High-Density Lipoprotein*); DHL: Desidrogenase láctica; Gama GT: Gama Glutamil Transferase; TGO: Transaminase Glutâmico-Oxalacética; TGP: Transaminase Glutâmico-Pirúvica.

Na figura 10 comparamos o estado inflamatório das PVHA do grupo com osteopenia em homens, osteopenia em mulheres e o grupo normal, com o grupo PVHA hospitalizados, a fim de encontrar uma diferença entre os grupos do estudo deste trabalho e o grupo hospitalizado, no entanto o estado inflamatório dos níveis de CD14 solúvel (sCD14) não mostrou nenhuma diferença entre os grupos (Figura 10).

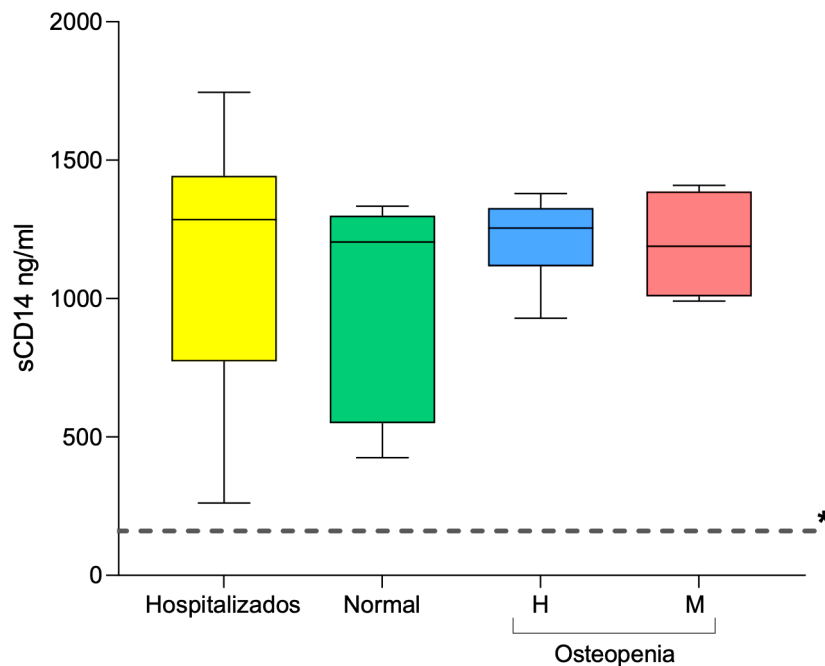


Figura 10 – Níveis de CD14 solúvel. Comparação entre os grupos: PVHA hospitalizados, PVHA normal, PVHA com osteopenia em homens e PVHA com osteopenia em mulheres. *Níveis de concentração de CD14 solúvel em indivíduos HIV-.

Na figura 11 avaliamos a relação da restituição de linfócitos CD4⁺, onde foi verificado o primeiro CD4⁺ no diagnóstico da infecção pelo HIV e o último CD4⁺ já em uso de TARV, e foi evidenciado uma melhora significativa no grupo normal e no grupo osteopenia em mulheres (figura 11AE), enquanto no grupo osteopenia em homens não apresentou uma diferença significativa (Figura 11C). Quando verificamos a cinética do CD4⁺ do diagnóstico até o último exame realizado da contagem de CD4⁺, observa-se uma regularidade na recuperação de CD4⁺ durante os anos de infecção e uso da TARV no grupo normal (Figura 11B), o que é o oposto nos grupos de osteopenia nos homens e nas mulheres, observamos a restituição do CD4⁺, entretanto, nota-se uma irregularidade na recuperação de CD4⁺ durante os anos de infecção e uso de TARV (Figura 11DF).

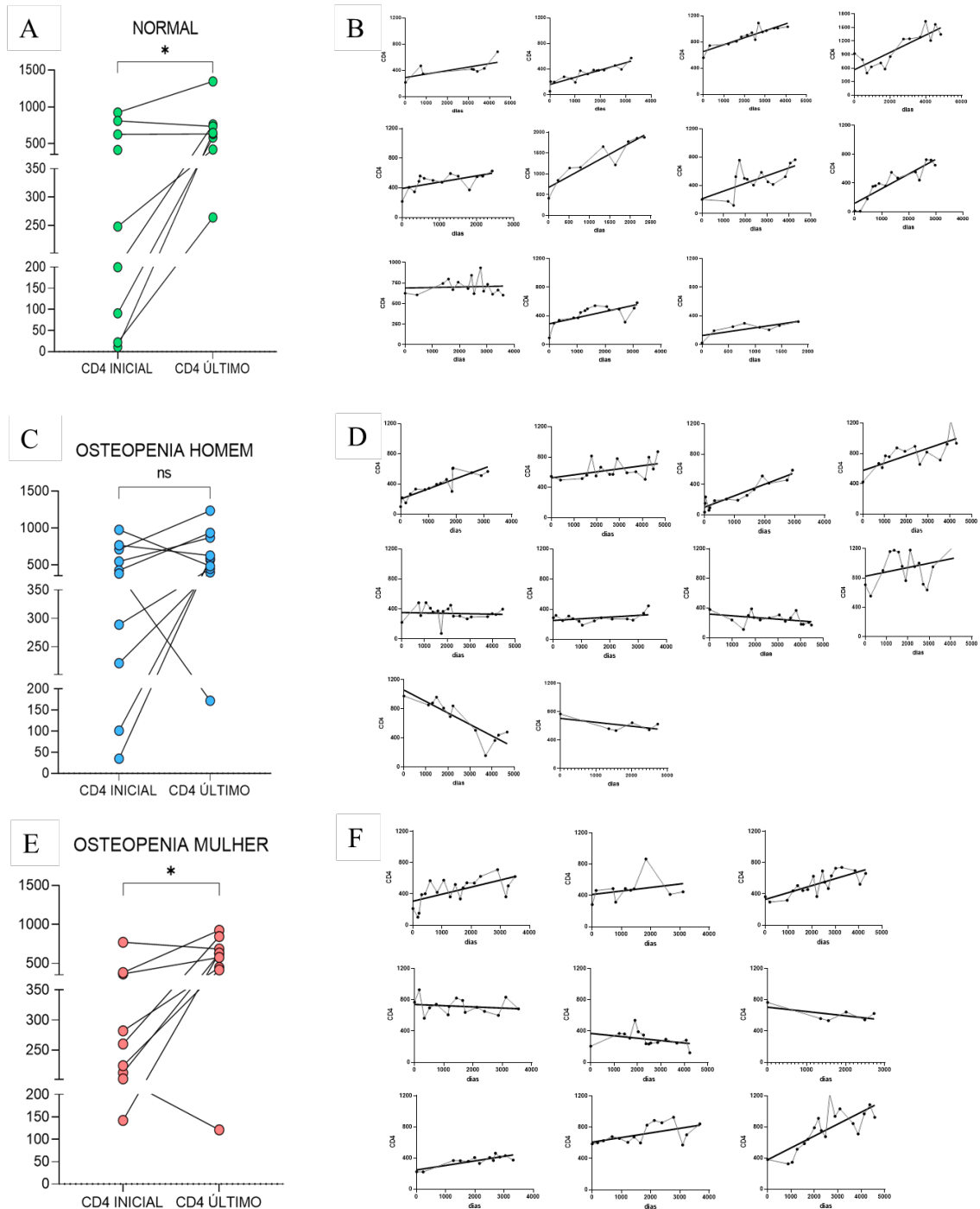


Figura 11 - Recuperação de CD4⁺ do diagnóstico até o último CD4⁺ em uso de TARV. Comparação recuperação de CD4⁺ entre os grupos normal (A), osteopenia em homens (C) e osteopenia em mulheres (E), desde o primeiro até o último exame de contagem de CD4⁺. Figuras (B/D/E) mostram a cinética dos grupos normal (B), osteopenia em homens (D) e osteopenia em mulheres (F) em relação a recuperação de CD4⁺ desde o início da infecção até a última contagem de CD4⁺.

Para avaliar a relação da disfunção linfocitária com a perda óssea, os linfócitos CD4⁺ (CD3⁺CD4⁺) e CD8⁺ (CD3⁺CD8⁺) foram fenotipados com perfil de uma célula regulatória (T-regulatória CD4⁺CTLA-4⁺IL-10⁺), exaustão celular (CD8⁺PD-1⁺), de ativação (CD4⁺CD69⁺; CD4⁺HLADR⁺; CD8⁺CD69⁺ e CD8⁺HLA-DR⁺) e fenótipos de atividade proliferativa (CD4⁺Ki-67⁺ e CD8⁺Ki-67⁺). Além da IL-10, a produção de IFN γ e TNF α foi quantificada a nível intracitoplasmático.

A Figura 12 mostra não haver diferenças na frequência de linfócitos CD4⁺ entre o grupo normal e o grupo com osteopenia em homens e em mulheres (Figura 12A). Em relação ao nível funcional, estes linfócitos nos homens com osteopenia apresentam uma frequência maior de células com capacidade proliferativa pelo marcador Ki-67⁺, e uma frequência menor dessas células proliferativas nas mulheres com osteopenia (Figura 12B).

Em relação as subpopulações de linfócitos TCD4⁺CTLA-4⁺, o grupo com DMO normal mostrou uma frequência de linfócitos TCD4⁺CTLA-4⁺ elevada em comparação com o grupo com osteopenia em homens e nas mulheres (Figura 12C). Quanto ao fenótipo de hiperativação definido pela frequência do receptor HLA-DR⁺ na superfície de células TCD4⁺, apresentou diferenças entre os grupos (Figura 12D).

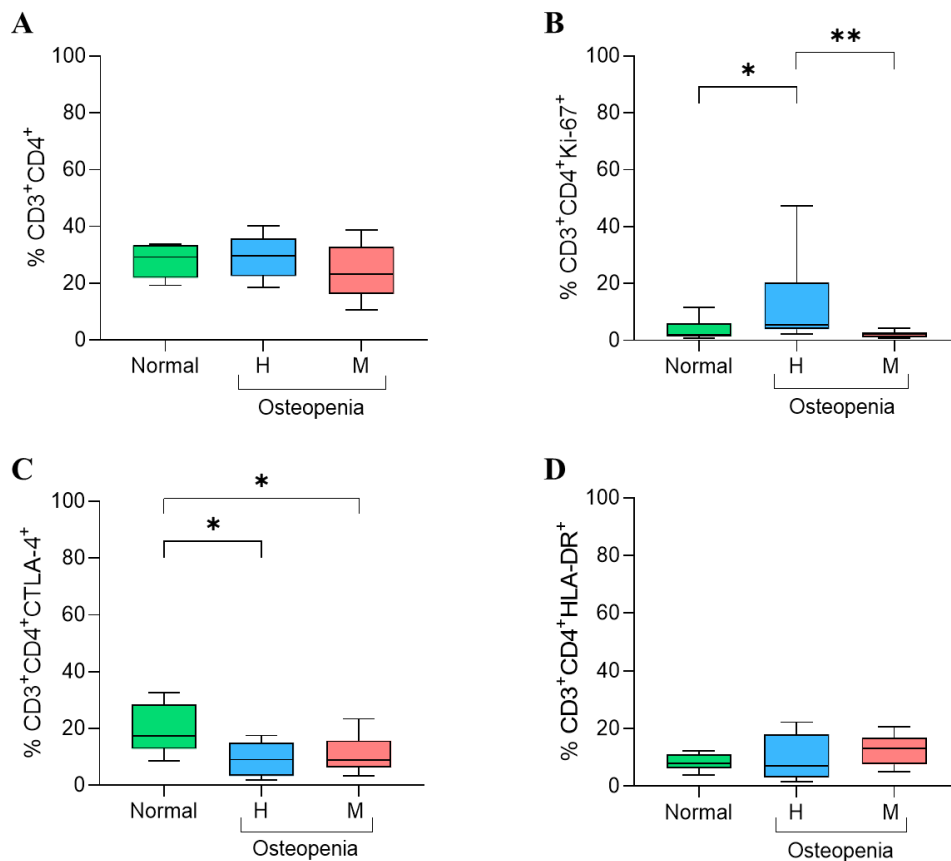


Figura 12 – Frequência de subpopulações de linfócitos TCD4⁺ e frequência de níveis de ativação celular. Comparação das subpopulações de linfócitos CD4⁺. **A)** Frequência de linfócitos CD3⁺CD4⁺; **B)** Frequência de TCD4⁺ com atividade proliferativa CD4⁺Ki67⁺; **C)** Frequência de subpopulações de CTLA-4⁺ nos linfócitos CD3⁺CD4⁺; **D)** Frequência de TCD4⁺ com fenótipo de hiperativação CD4⁺HLDR⁺.

Ainda em relação as subpopulações de linfócitos TCD4⁺CTLA-4⁺, analisando os fenótipos de expressão hiperativação e expressão de citocinas, observamos um nível de expressão maior do receptor HLA-DR⁺ em homens com osteopenia em relação aos grupos normal e ao grupo de osteopenia em mulheres (Figura 14A). Enquanto no grupo com osteopenia em mulheres observamos uma expressão maior no fenótipo de ativação celular

(TCD4⁺CTLA4⁺CD69⁺), quando comparados com os grupos normal e osteopenia em homens (Figura 14B).

Quando analisamos o nível da expressão de citocinas nas subpopulações TCD4⁺CTLA-4⁺, observamos uma expressão maior de IFN γ no grupo normal (Figura 14C), uma produção mais elevada de TNF α no grupo com osteopenia em homens em relação ao grupo normal (Figura 14D) e mesmo que não tenha apresentado uma significância estatística, podemos observar um aumento na produção da expressão de IL-10 com perfil de uma Treg (TCD4⁺CTLA4⁺IL-10⁺) no grupo com osteopenia em mulheres em relação os grupos normal e osteopenia em homens (Figura 14E).

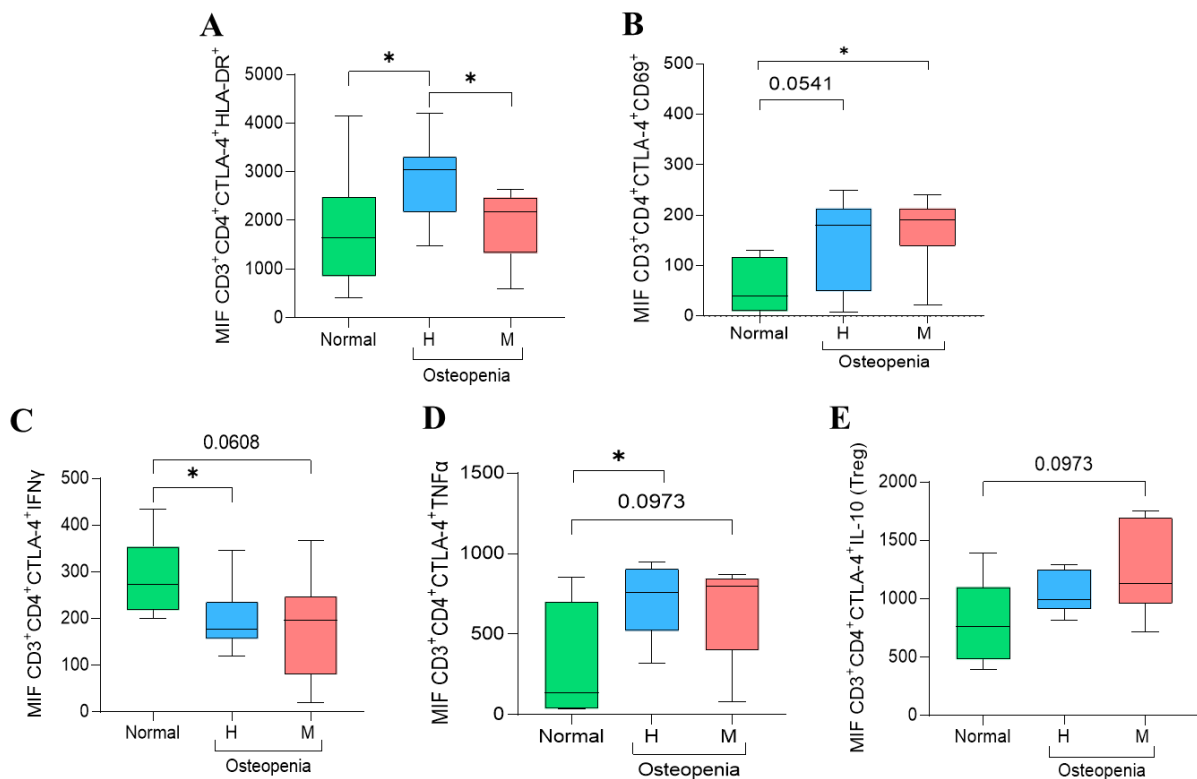


Figura 13 - Expressão de subpopulações de linfócitos com perfil de T regulatória CD4⁺ e expressão de citocinas. A) Níveis de expressão de HLA-DR⁺ nos linfócitos TCD4⁺; **B)** Expressão de CD69⁺ como fenótipo de ativação celular; **C)** Expressão de IFN γ em linfócitos TCD4⁺; **D)** Expressão de TNF α em linfócitos TCD4⁺; **E)** Níveis de expressão de IL-10 em TCD4⁺ com perfil regulatório.

Assim como avaliamos a questão do primeiro e último CD4⁺ nessas pessoas, avaliamos também a da restituição de linfócitos CD8⁺, no entanto, não foi observado uma diferença estatística em ambos os grupos (Figura 14ABC).

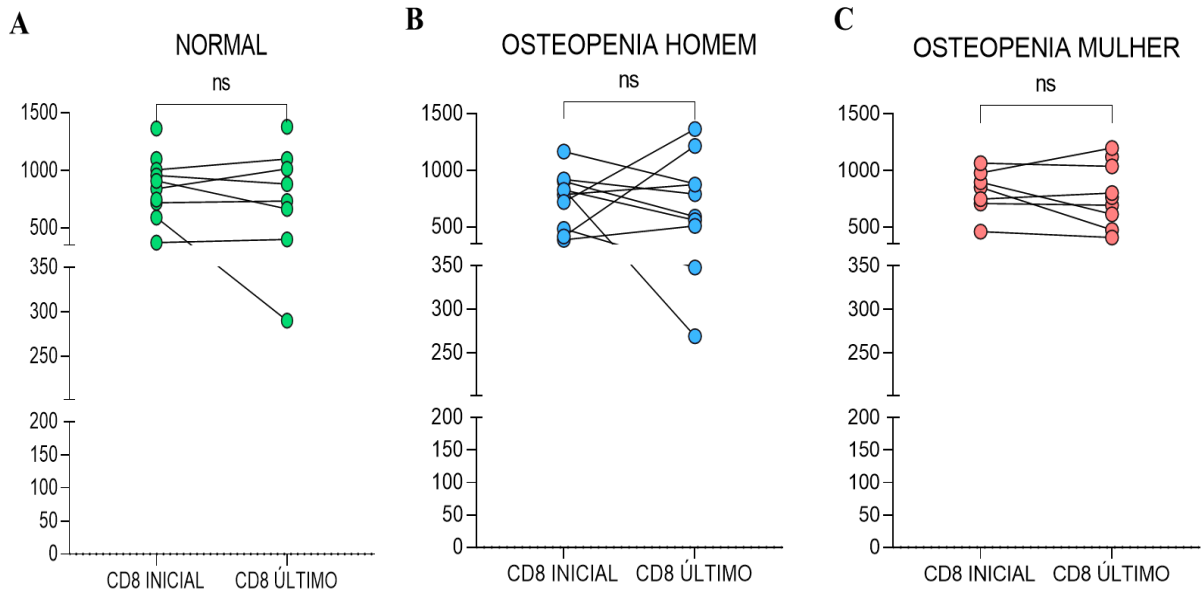


Figura 14 - Recuperação de CD8⁺ do diagnóstico até o último CD8⁺ em uso de TARV. Comparação recuperação de CD8⁺ entre os grupos normal (A), osteopenia em homens (B) e osteopenia em mulheres (C), desde o primeiro até o último exame de contagem de CD8⁺.

Em relação as subpopulações CD8⁺ (CD3⁺CD8⁺), não há diferença na frequência dos linfócitos TCD8⁺, entretanto observamos um leve aumento no grupo com osteopenia em mulheres (Figura 15A). Quanto ao nível funcional, observamos uma diferença significativa em ambos os grupos, mostrando uma atividade proliferativa dessas células maior nos homens com osteopenia em relação ao grupo normal e ao grupo com osteopenia em mulheres, e a frequência de Ki-67⁺ e muito mais baixa no grupo com osteopenia em mulheres quando comparado com o grupo com osteopenia em homens (Figura 15B).

Em relação as subpopulações de linfócitos TCD8⁺PD-1⁺, o grupo normal e o grupo osteopenia em mulheres, apresentou uma frequência maior do fenótipo de exaustão (PD1⁺) (Figura 15C), e observamos o oposto no grupo osteopenia em homens, mostrando uma frequência abaixo de ambos os grupos (Figura 15C). A nível de hiperativação, que é definido pelo receptor HLA-DR⁺ na superfície de TCD8⁺, não vemos uma diferença significativa, e ambos os grupos se comportam da mesma forma (Figura 15D).

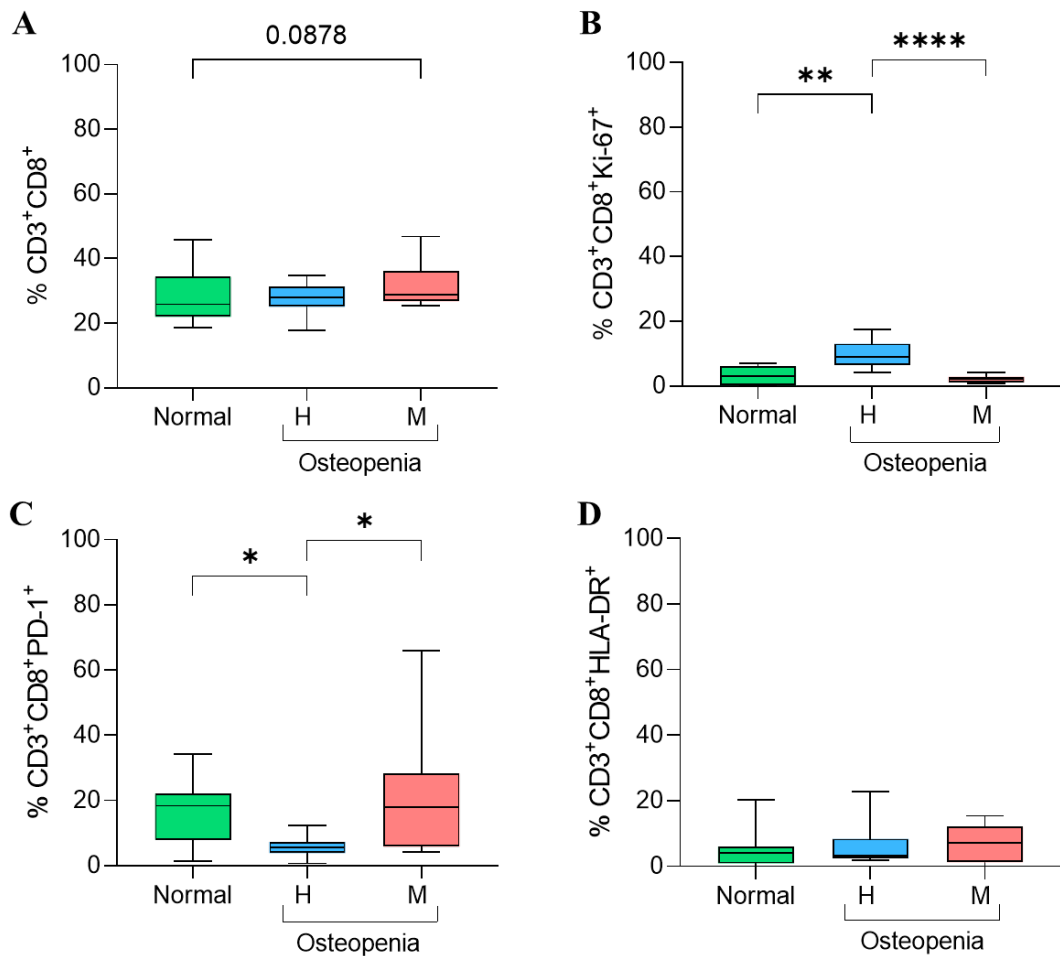


Figura 15 - Frequência de subpopulações de linfócitos TCD8⁺ e os de níveis de produção de citocinas. **A)** Frequência de linfócitos CD3⁺CD8⁺; **B)** Frequência de linfócitos TCD8⁺ com atividade proliferativa CD8⁺Ki67⁺; **C)** Frequência de subpopulações de PD-1⁺ nos linfócitos CD3⁺CD8⁺; **D)** Frequência de linfócitos TCD8⁺ com fenótipo de hiperativação CD8⁺HLA-DR⁺.

Quando analisamos o nível da expressão de citocinas e fenótipos de hiperativação nas subpopulações com fenótipo em exaustão celular (TCD8⁺PD-1⁺), em relação a expressão do receptor HLA-DR⁺, e na expressão no fenótipo de ativação celular (TCD8⁺PD-1⁺CD69⁺), não foi observado uma diferença significativa em ambos os grupos analisados (Figura 16AB). Entretanto observamos uma produção mais elevada no nível da expressão de IFN γ no grupo de osteopenia em homens comparado com o grupo normal (Figura 16C). Na expressão de IL-10 em TCD8⁺PD-1⁺ não foi encontrado diferença significativa entre os grupos (Figura 16D).

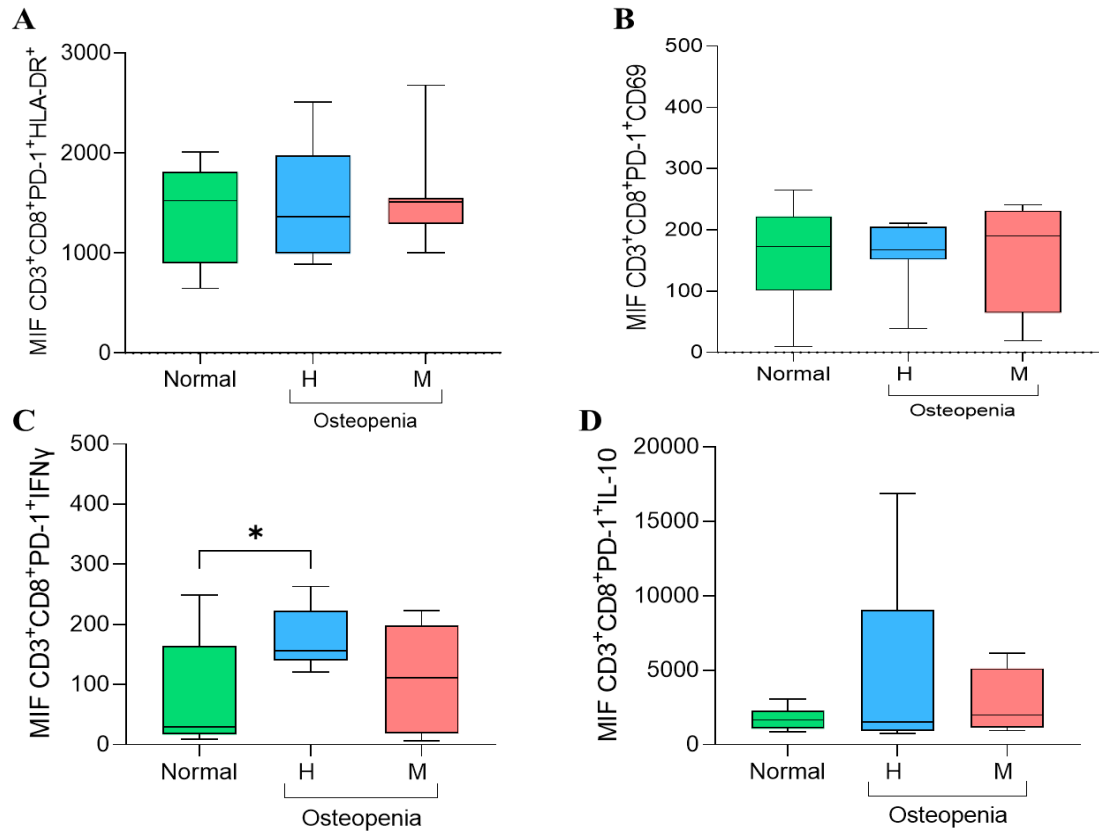


Figura 16 - Expressão de subpopulações de linfócitos TCD8⁺PD-1⁺ e níveis de expressão de citocinas. A) Níveis de expressão de HLA-DR⁺ em células CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺; B) Expressão CD69⁺ com fenótipo de ativação celular; C) Expressão IFN γ em linfócitos TCD8⁺; D) Níveis de expressão de IL-10 em linfócitos TCD8⁺.

6. DISCUSSÃO

O crescente aumento de PVHA acima dos 50 anos tem sido acompanhada por uma alta prevalência de comorbidades associadas a idade, como a doença óssea, que, além de reduzir a capacidade funcional, tem incidido precocemente quando se compara com a população em geral (MORAN; NEALE WEITZMANN; OFOTOKUN, 2017; SALARI et al., 2021). Essa precocidade tem sido bem reportada e associada a fatores relacionados a infecção do vírus e a outros relacionados ao envelhecimento e estilo de vida (KWAK et al., 2019).

O presente estudo é pioneiro na região Amazônica ao reportar a prevalência de osteopenia em homens e mulheres vivendo com HIV em uso de TARV. Embora a amostragem tenha sido pequena e por conveniência, o achado é alarmante, além do fato de que não há relatos na literatura com uma altíssima prevalência de osteopenia/osteoporose acima de 50 anos (75% entre homens e 94,7% entre mulheres) (BIVER, 2022; GRUND et al., 2009).

Os mecanismos de perda óssea no contexto da infecção pelo HIV são multifatoriais, incluem efeitos virais, do hospedeiro e imunológicos, bem como efeitos diretos e indiretos da TARV, em particular aos esquemas incluindo tenofovir disoproxil fumarato e os inibidores de protease (ASSOUMOU et al., 2013; MORAN; NEALE WEITZMANN; OFOTOKUN, 2017).

Na comparação de dois fatores do hospedeiro, a idade das PVHA do grupo de homens cuja saúde óssea está dentro da normalidade, não diferiu aos 2 grupos com osteopenia separadas por gênero. Sobre a TARV, o tempo de tratamento não mostrou diferença entre eles, embora houvesse a tendência de que o tempo de TARV fosse menor nos homens com a saúde óssea normal. É bem estabelecido que a redução da DMO ocorre logo após um ano de TARV, a intensidade dessa redução perde, modestamente, a força ao longo de 2 anos ou mais e se estabiliza na terapia de longo prazo (COMPSTON, 2016).

Aqui, os participantes receberam desde 2014 o esquema preconizado no Brasil (tenofovir, lamivudina e efavirenz) e, a partir de 2017, o último foi substituído por dolutegravir (dados não mostrados). O tempo de TARV dos participantes já configura como longo prazo. Assim, o possível impacto direto e indireto da TARV sobre a desmineralização óssea já foi estabilizado entre os participantes. Nesse contexto é importante ressaltar um estudo na qual reporta a mitigação da perda óssea no início da TARV por uma profilaxia com bifosfonatos de ação prolongada e/ou suplementação de vitamina D e cálcio (MORAN; NEALE WEITZMANN; OFOTOKUN, 2017). Embora não tivéssemos informação sobre profilaxias com nossos pacientes, os níveis de vitamina D e de cálcio de quase totalidade deles estão no limiar mínimo

de normalidade. Assim, o tempo e os esquemas de tratamento são semelhantes de modo que a perda óssea do grupo com osteopenia possa ser respondida por outros fatores.

Vários estudos têm demonstrado uma relação entre o sistema imune e a remodelação óssea, referida como osteoimunologia ou interface imunoesquelética (DAR et al., 2018; OKAMOTO et al., 2017; TAKAYANAGI, 2009). Além deles, estudos envolvendo animais foram relevantes na fundamentação de mecanismos fisiopatológicos da perda óssea induzida pelo HIV, como também outras patologias e até mesmo na indução de hipoestrogenemia como fator de osteoporose primária (NEALE WEITZMANN et al., 2022; ROSER-PAGE et al., 2018; WEITZMANN, 2013, 2014).

No contexto da infecção do HIV controlada, como é o caso dos participantes deste estudo, a perda óssea é impactada pela inflamação crônica como uma consequência de processos imunitários sobre sistema regulador de remodelação óssea mediado por citocinas osteoclastogênicas (WEITZMANN, 2013). Segundo esses estudos, a relação da inflamação crônica e os processos imunitários envolve uma tríade de fatores: reconstituição de células TCD4⁺ como resultado da TARV, ação de proteínas regulatórias do HIV por uma replicação residual e persistente do HIV-1 em reservatórios e os danos causados à homeostase intestinal influenciado pela relação carga viral/depleção de células CD4. Aqui, ativação imune e a inflamação crônica não diferem entre os grupos baseado nos valores de PDW, marcador de progressão da infecção do HIV (GAMA et al., 2020, 2021; NKAMBULE; DAVISON; IPP, 2015) e de CD14s, marcador de inflamação crônica em resposta a translocação de lipopolissacarídeo por uma disbiose intestinal (BRENCHLEY et al., 2006; CASTILLO-MANCILLA et al., 2016).

Na tríade da inflamação crônica, a reconstituição de células TCD4⁺ como resultado da TARV depende da particularidade de cada pessoa em relação ao tempo de infecção, queda da contagem de CD4 e o tempo desde o início da terapia. A reconstituição imunológica é definida como uma contagem total de células ≥ 500 células/ μL , em diferentes momentos após o tratamento com TARV (CHEN et al., 2022). A restauração imunológica de células TCD4⁺ pode contribuir para a perda óssea já nos meses seguintes ao início do tratamento. Ela independente do esquema antiviral e é comparável ao que ocorre na fase inicial da menopausa (NEALE WEITZMANN et al., 2022; OFOTOKUN et al., 2015).

A média da contagem de CD4 inicial e a média da última contagem de CD4 dos homens do grupo normal mostra um ganho de células (Figura 11A). Esse ganho é visto ao longo do tratamento sendo que a maioria mostra uma contagem crescente com pouca oscilação (Figura 11B). Diferentemente, a média da última contagem de CD4 dos homens com osteopenia não

representa ganho (Figura 11C) e o comportamento ao longo do tratamento oscila bastante para alguns e reduz para outros (Figura 11D), o mesmo acontece quando observamos as mulheres com osteopenia (Figuras 11EF). Os estudos com modelos animais demonstram que a restituição imune pelo ganho na contagem de CD4 favoreça ativação imune levando a um desbalanço na produção de mediadores imunológicos e osteoclastogênicos causando a osteopenia (NEALE WEITZMANN et al., 2022; OFOTOKUN et al., 2015).

Aqui, muitos dos homens do grupo normal tiveram ganho de CD4 acima de 500 células desde o meio do seu tratamento e o crescimento foi constante. Esse comportamento foi visto em alguns homens com osteopenia, contudo essa restituição oscilou bastante, e outros nem tiveram ganho. Essa heterogeneidade de históricos pode ser reflexo de vários outros fatores, tais como, idade em relação a produção de células T pelo timo, a ativação imunológica e a exaustão imunológica conforme estudo (CHEN et al., 2022).

Diante deste contexto, a identificação de fenótipos células T com perfis de disfunção imunológica tem sido investigado na relação da perda óssea na infecção pelo HIV como também no envelhecimento natural (GAZZOLA et al., 2013; TITANJI; OFOTOKUN; WEITZMANN, 2020; WEITZMANN, 2013, 2014, 2017). As análises fenotípicas demonstram um aumento da porcentagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ totais que expressam Ki-67⁺ em masculinos (Figura 12B e 15B). A proteína Ki-67 está presente durante todas as fases ativas do ciclo celular (G1, S, G2 e mitose), mas está ausente nas células em repouso (SCHOLZEN; GERDES, 2000). Assim, nossos resultados sugerem que todas as subpopulações de células TCD4⁺ e TCD8⁺ estão em atividade proliferativa e renovação celular. De modo que essa atividade pode ser um bom indicativo de repovoamento dessas células e, portanto, importante para avaliação da perda óssea em pacientes que alcançam supressão viral completa com TARV, como já utilizado em outros estudos (OFOTOKUN et al., 2015; TITANJI et al., 2018).

Neste contexto, nós observamos diferenças quantitativas de linfócitos T com perfis regulatórios baseado nas moléculas CTLA-4 e PD-1. É estabelecido que os linfócitos T utilizam mecanismos de ativação distintos, essas subpopulações possuem um perfil regulador importante nas respostas de células T de memória (CHAMBERS; KUHNS; ALLISON, 1999; PARRY et al., 2005; TAI et al., 2012).

A molécula CTL-4 é receptor de células T regulatórias, conhecidas como células T supressoras. Elas previnem doenças autoimunes espontâneas ao atenuar respostas inflamatórias das células T por uma supressão e anergia intrinsecamente ligada ao bloqueio de co-estimulação (TAI et al., 2012). Dois estudos propuseram papel modulador das células Treg na homeostase óssea. No primeiro, osteoclastos são inibidos dependente de citocinas do tipo Th2 (KIM et al.,

2007). O outro mostrou evidências de ação dependente do contato célula-a-célula do receptor CTLA-4 competindo com a molécula CD28 na ligação aos co-receptores CD80 e CD86 de células apresentadoras de antígeno atenuando assim as respostas inflamatórias (WING; YAMAGUCHI; SAKAGUCHI, 2011).

Sob a ótica do contato célula-a-célula, estudos mostraram efeito antagonista da co-estimulação CD80/CD28 no processo de remineralização óssea, onde foi comprovado por meio da ação de um derivado farmacológico de CTLA-4 (uma proteína de fusão humanizada contendo domínio CTLA-4 com cadeia Fc de imunoglobulina, denominado CTLA-4-Ig) (ROSER-PAGE et al., 2014, 2018; WEITZMANN, 2013). Segundo os estudos, a administração de CTLA-4-Ig foi capaz de prevenir a perda óssea pela modulação negativa da osteoclastogênese e reabsorção óssea em camundongos *in vivo*. Aqui os nossos dados mostram que os homens com saúde óssea normal têm mais células CTLA-4⁺ circulantes que os osteopênicos (Figura 12C).

Ao quantificarmos a expressão de citocinas intracitoplasmática, os níveis de IL-10 foram semelhantes entre os grupos (Figuras 13E). Nesse conjunto de dados, os nossos resultados sugerem que a saúde óssea dos homens vivendo com HIV (grupo Normal) estaria associado ao quantitativo de células CD4⁺CTLA-4⁺ e não pela expressão de citocinas regulatórias. Por outro lado, observamos que no grupo normal as células CD4⁺CTLA-4⁺ expressam mais IFN γ em relação ao TNF α , e nos osteopênicos há desbalanço em favor de TNF α (Figuras 13CD). Na modulação da interface imunoquelética, os osteoblastos produzem a matriz óssea e mantêm a estrutura óssea, enquanto os osteoclastos induzem a reabsorção óssea (TANAKA, 2019).

Segundo o autor, sob estímulos inflamatórios, células Th1 e Th17 induzem osteoclastos através da produção de TNF α e IL-17, e as células Th1 inibem a expressão de OPG através da produção de IFN γ causando desequilíbrio na renovação óssea (TANAKA, 2019). Os nossos achados são oriundos de células do sangue periférico, representam apenas um retrato de que PVHA com saúde óssea normal possuem um número maior de CD4⁺CTLA-4⁺ circulantes. Se realmente o papel dessas células na proteção contra reabsorção óssea nas PVHA seja preferencialmente por contato ou por ação de citocinas, ou ambos, futuros estudos irão responder. Aqui, nossos resultados são importantes porque definiram fenótipos para estudos mecanísticos visando esclarecer tais questionamentos.

Ainda sobre perfil regulatório de subpopulações de linfócitos T, a molécula PD-1 também regula negativamente a ativação de células T, como a CTLA-4 (PARRY et al., 2005). Segundo o estudo, a sinalização PD-1 bloqueia a ativação da via das Fosfatidilinositol 3-quinases (PI3K) que é mediada por CD28. Essa via é importante nas respostas sob processo inflamatório, como

a proliferação, o desenvolvimento e a migração celular. Os autores concluem que o envolvimento de PD-1 inibe as respostas mediadas por receptor CD28 em células T de forma mais eficaz do que a ligação de CTLA-4⁺. Aqui nós também observamos uma redução no quantitativo de células TCD8⁺PD-1⁺ nos homens com osteopenia da mesma forma que as células CTLA-4⁺ (Figuras 12C e 15C). Na avaliação da expressão de citocinas intracitoplasmáticas, a produção de IFN γ pela TCD8⁺PD-1⁺ foi contrária à observada com a CTLA-4⁺. Segundo o estudo de Gao e colaboradores, o IFN- γ como um produto de células T auxiliares ativadas pode funcionar como uma citocina pró ou antirreabsortiva, mas a razão pela qual o IFN- γ tem efeitos variáveis no osso é desconhecida (GAO et al., 2007). Aqui, nossos achados são relevantes para identificar fenótipos para abrir perspectivas de estudos futuros sobre o perfil regulatório das células expressando PD-1 em terapias para tratamento da osteoporose em PVHA (TANAKA, 2019).

Por fim, nós propomos a avaliação do quantitativo de células caracterizadas por marcadores de ativação celular (HLA-DR⁺ e CD69⁺), visto que a relação de hiperativação e senescência imunológica tem sido descrito no distúrbio do metabolismo ósseo em PVHA (BROWN et al., 2015; GAZZOLA et al., 2013; TITANJI et al., 2018). Nós observamos que a osteopenia nas PVHA de ambos os sexos, está associada com aumento de subpopulações CD4⁺CTLA-4⁺CD69⁺ e CD4⁺CTLA-4⁺HLA-DR⁺ (Figuras 13AB). O fato do aumento de CD4⁺CTLA-4⁺CD69⁺ nos homens estar com p valor 0.0541 indica essa tendência. Segundo o estudo que avaliou mecanisticamente a expressão desses receptores em culturas de PBMC, o CD69 é um marcador de superfície que atinge o pico dentro de 24 horas após a ativação e diminui rapidamente quando estímulos são retirados. Assim, o CD69 é um bom indicador de continuidade de estimulação. Por outro lado, o HLA-DR é um marcador de ativação crônica persistente. Assim, nossos dados estão em acordo com os achados de alguns autores sobre perfis de linfócitos TCD4⁺ de senescência/exaustão e hiperinflamação associados com perda de DMO, entre aqueles que alcançam supressão viral completa com TARV independente da contagem de células TCD4⁺ (BROWN et al., 2015; GAZZOLA et al., 2013c; TITANJI et al., 2018).

7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Apesar do estudo apresentar resultados promissores, alguns desafios foram encontrados durante o desenvolvimento deste projeto gerando algumas limitações em responder as perguntas deste estudo. A primeira é quantitativo amostral que podem fragilizar nossos resultados, pois o convite para participação foi realizado por conveniência com PVHA acima de 40 anos e de ambos os sexos. A segunda limitação foi em relação ao desenho experimental, o estudo não previu um grupo controle constituído de pessoas soronegativas para infecção pelo HIV com idade próxima ao grupo.

Devido o quantitativo de exame DMO ter sido limitado, o N amostral para a análise de citometria ficou de certa forma prejudicado porque poucas mulheres do estudo tiveram DMO dentro da normalidade. A terceira limitação foi o prejuízo com algumas amostras durante o descongelamento. Apesar das limitações, o estudo teve sua potencialidade porque é pioneiro e, apesar da limitação amostral, o que observamos até o momento vai de encontro do que é visto na literatura, tanto em modelos animais como em estudos em humanos. Além disso, os nossos dados são promissores porque abrem perspectivas de continuidade.

8. CONCLUSÃO

Dessa forma conseguimos apresentar a caracterização fenotípica da disfunção regulatória de linfócitos T CTLA-4 e PD-1 em PVHA que apresentam baixa mineralização óssea independente do sexo, foi observada que mesmo com a restituição dos níveis de CD4 circulantes exista a redução de subpopulações que exerçam o papel regulador mesmo na presença do aumento de marcadores proliferativos, essas subpopulações possuem: 1) elevação de marcadores de ativação; 2) diminuição da produção intracelular de citocina IFN γ ; 3) aumento da produção de TNF α e IL-10, indicadores que segundo a literatura favorecem a osteopenia.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, J. M. et al. Low bone mass and vitamin D in Brazilian people living with HIV under antiretroviral therapy. **Archives of Osteoporosis**, v. 17, n. 1, p. 1–11, 1 dez. 2022.
- ALCAMÍ, J. Avances en la inmunopatología de la infección por el VIH. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 22, n. 8, p. 486–496, jan. 2004.
- AMOROSA, V.; TEBAS, P. Bone disease and HIV infection. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 42, n. 1, p. 108–114, 1 jan. 2006.
- ASSOUMOU, L. et al. Changes in bone mineral density over a 2-year period in HIV-1-infected men under combined antiretroviral therapy with osteopenia. **AIDS (London, England)**, v. 27, n. 15, p. 2425–2430, 24 set. 2013.
- AYNARDI, M.; ILYAS, A. M. Pharmacologic management of osteoporosis. **Journal of Hand Surgery**, v. 38, n. 3, p. 588–592, 1 mar. 2013.
- AZAMAR-ALONSO, A. et al. Patient characteristics and determinants of CD4 at diagnosis of HIV in Mexico from 2008 to 2017: a 10-year population-based study. **AIDS research and therapy**, v. 18, n. 1, 1 dez. 2021.
- BANDER, D.; PARCZEWSKI, M. Osteoporosis and vitamin D deficiency in HIV-infected patients: Genetic and classical factors compared to the HIV-associated ones – Review. **HIV & AIDS Review**, v. 11, n. 1, p. 1–4, 1 mar. 2012.
- BARRÉ-SINOUSSE, F. et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science (New York, N.Y.)**, v. 220, n. 4599, p. 868–871, 1983.
- BASTOS, F. I. et al. **A epidemia de AIDS no Brasil. Os muitos Brasis: saúde e população na década de 80**. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-150187>>. Acesso em: 31 ago. 2023.
- BIVER, E. Osteoporosis and HIV Infection. **Calcified tissue international**, v. 110, n. 5, p. 624–640, 1 maio 2022.
- BOTELHO, M. A. Idade avançada - Características biológicas e multimorbilidade. **Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar**, v. 23, n. 2, p. 191–5, 1 mar. 2007.
- BRASIL. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos**. [s.l.] Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de

Vigilância Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis do HIV/Aids e das Hepatites Virais., 2018.

BRASIL. **Boletim Epidemiológico de HIV/Aids**. Brasil: [s.n.]. Disponível em: <https://www.gov.br/aids/pt-br/centrais-de-conteudo/boletins-epidemiologicos/2022/hiv-aids/boletim_hiv_aids_-2022_internet_31-01-23.pdf/view>. Acesso em: 10 jun. 2023.

BRENCHLEY, J. M. et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. **Nature medicine**, v. 12, n. 12, p. 1365–1371, dez. 2006.

BROWN, T. T. et al. Loss of bone mineral density after antiretroviral therapy initiation, independent of antiretroviral regimen. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 51, n. 5, p. 554–561, ago. 2009.

BROWN, T. T. et al. Changes in bone mineral density after initiation of antiretroviral treatment with Tenofovir Disoproxil Fumarate/Emtricitabine Plus Atazanavir/Ritonavir, Darunavir/Ritonavir, or Raltegravir. **Journal of Infectious Diseases**, v. 212, n. 8, p. 1241–1249, 15 out. 2015.

BROWN, T. T.; QAQISH, R. B. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. **AIDS (London, England)**, v. 20, n. 17, p. 2165–2174, nov. 2006.

BRUERA, D. et al. Decreased bone mineral density in HIV-infected patients is independent of antiretroviral therapy. **AIDS (London, England)**, v. 17, n. 13, p. 1917–1923, 5 set. 2003.

BURGE, R. et al. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005-2025. **Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, v. 22, n. 3, p. 465–475, mar. 2007.

CAERAN, G. et al. Insulin Resistance and Its Association With Osteoporosis in People Living With HIV. **Journal of the Endocrine Society**, v. 6, n. 12, 1 dez. 2022.

CAREY, J. J. et al. DXA-Generated Z-Scores and T-Scores May Differ Substantially and Significantly in Young Adults. **Journal of Clinical Densitometry**, v. 10, n. 4, p. 351–358, out. 2007.

CASTILLO-MANCILLA, J. R. et al. Suboptimal Adherence to Combination Antiretroviral Therapy Is Associated With Higher Levels of Inflammation Despite HIV Suppression. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 63, n. 12, p. 1661–1667, 15 dez. 2016.

CDC. **A Cluster of Kaposi's Sarcoma and Pneumocystis carinii Pneumonia among Homosexual Male Residents of Los Angeles and range Counties, California**. Disponível

em: <<https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001114.htm>>. Acesso em: 31 ago. 2023.

CDC. **Defining Adult Overweight & Obesity**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/obesity/basics/adult-defining.html#:~:text=Class%201%3A%20BMI%20of%2030,categorized%20as%20%E2%80%9Csevere%E2%80%9D%20obesity>>. Acesso em: 10 jun. 2023.

CHAMBERS, C. A.; KUHNS, M. S.; ALLISON, J. P. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) regulates primary and secondary peptide-specific CD4+ T cell responses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 15, p. 8603, 7 jul. 1999.

CHAN, H. L. Y. et al. Tenofovir alafenamide versus tenofovir disoproxil fumarate for the treatment of HBsAg-positive chronic hepatitis B virus infection: a randomised, double-blind, phase 3, non-inferiority trial. **The Lancet Gastroenterology and Hepatology**, v. 1, n. 3, p. 185–195, 2016.

CHANG, C. J. et al. People with HIV infection had lower bone mineral density and increased fracture risk: a meta-analysis. **Archives of osteoporosis**, v. 16, n. 1, 1 dez. 2021.

CHEN, J. et al. The effect of age on CD4+ T-cell recovery in HIV-suppressed adult participants: a sub-study from AIDS Clinical Trial Group (ACTG) A5321 and the Bone Loss and Immune Reconstitution (BLIR) study. **Immunity & ageing : I & A**, v. 19, n. 1, 1 dez. 2022.

COMPSTON, J. **HIV infection and bone disease**. **Journal of Internal Medicine** Blackwell Publishing Ltd, , 1 out. 2016.

CORADO, A. D. L. G. et al. HIV-1 genetic diversity and antiretroviral drug resistance among individuals from Roraima state, northern Brazil. **PLoS ONE**, v. 12, n. 3, p. 1–11, 2017.

CUMMINGS, S. R.; MELTON, L. J. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. **Lancet (London, England)**, v. 359, n. 9319, p. 1761–1767, 18 maio 2002.

D'ABRAMO, A. et al. Higher levels of osteoprotegerin and immune activation/immunosenescence markers are correlated with concomitant bone and endovascular damage in HIV-suppressed patients. **PLoS ONE**, v. 11, n. 2, 1 fev. 2016.

DAR, H. Y. et al. Osteoimmunology: The Nexus between bone and immune system. **Frontiers in bioscience (Landmark edition)**, v. 23, n. 3, p. 464–492, 2018.

DEEKS, S. G. HIV infection, inflammation, immunosenescence, and aging. **Annual Review of Medicine**, v. 62, p. 141–155, 18 fev. 2011.

- DOLAN, S. E.; KANTER, J. R.; GRINSPOON, S. Longitudinal Analysis of Bone Density in Human Immunodeficiency Virus-Infected Women. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 91, n. 8, p. 2938, 2006.
- DOMÍNGUEZ-DOMÍNGUEZ, L. et al. Low CD4/CD8 ratio is associated with increased morbidity and mortality in late and non-late presenters: results from a multicentre cohort study, 2004–2018. **BMC Infectious Diseases**, v. 22, n. 1, p. 1–10, 1 dez. 2022.
- ERLANDSON, K. M. et al. Bone Mineral Density Declines Twice as Quickly Among HIV-Infected Women Compared to Men. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 77, n. 3, p. 288, 3 mar. 2018.
- FAUSTO, A. et al. Potential predictive factors of osteoporosis in HIV-positive subjects. **Bone**, v. 38, n. 6, p. 893–897, jun. 2006.
- FÜLÖP, T.; LARBI, A.; PAWELEC, G. Human T Cell Aging and the Impact of Persistent Viral Infections. **Frontiers in Immunology**, v. 4, n. SEP, 2013.
- GALLO, R. C. et al. Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science (New York, N.Y.)**, v. 220, n. 4599, p. 865–867, 1983.
- GAMA, W. M. et al. Increased levels of reactive oxygen species in platelets and platelet-derived microparticles and the risk of respiratory failure in HIV/AIDS patients. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, p. e200082, 2020.
- GAMA, W. M. et al. Immunologic biomarkers, morbidity and mortality among HIV patients hospitalised in a Tertiary Care Hospital in the Brazilian Amazon. **BMC infectious diseases**, v. 21, n. 1, 1 dez. 2021.
- GAO, Y. et al. IFN-gamma stimulates osteoclast formation and bone loss in vivo via antigen-driven T cell activation. **The Journal of clinical investigation**, v. 117, n. 1, p. 122–132, 4 jan. 2007.
- GAZZOLA, L. et al. Association between peripheral T-Lymphocyte activation and impaired bone mineral density in HIV-infected patients. **Journal of translational medicine**, v. 11, n. 1, 28 fev. 2013a.
- GAZZOLA, L. et al. Association between peripheral T-Lymphocyte activation and impaired bone mineral density in HIV-infected patients. **Journal of translational medicine**, v. 11, n. 1, 28 fev. 2013b.
- GAZZOLA, L. et al. Association between peripheral T-Lymphocyte activation and impaired bone mineral density in HIV-infected patients. **Journal of Translational Medicine**, v. 11, n. 1, 28 fev. 2013c.

- GOTTLIEB, M. S. et al. Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. **The New England journal of medicine**, v. 305, n. 24, p. 1425–1431, 10 dez. 1981.
- GRANT, P. M.; COTTER, A. G. Tenofovir and bone health. **Current opinion in HIV and AIDS**, v. 11, n. 3, p. 326–332, 2016.
- GRINSZTEJN, B. et al. Effects of early versus delayed initiation of antiretroviral treatment on clinical outcomes of HIV-1 infection: results from the phase 3 HPTN 052 randomised controlled trial. **The Lancet. Infectious diseases**, v. 14, n. 4, p. 281, 2014.
- GRUND, B. et al. Continuous antiretroviral therapy decreases bone mineral density. **AIDS**, v. 23, n. 12, p. 1519–1529, jul. 2009.
- HOLMES, C. B. et al. Review of human immunodeficiency virus type 1-related opportunistic infections in sub-Saharan Africa. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 36, n. 5, p. 652–662, 1 mar. 2003.
- KATZENSTEIN, T. L. et al. **Virological and immunological profiles among patients with undetectable viral load followed prospectively for 24 months**. [s.l.: s.n.].
- KIM, Y. G. et al. Human CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells inhibit the differentiation of osteoclasts from peripheral blood mononuclear cells. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 357, n. 4, p. 1046–1052, 15 jun. 2007.
- KLATT, N. R.; FUNDERBURG, N. T.; BRENCHLEY, J. M. Microbial translocation, immune activation, and HIV disease. **Trends in microbiology**, v. 21, n. 1, p. 6–13, jan. 2013.
- KWAK, M. K. et al. CD4 T cell count is inversely associated with lumbar spine bone mass in HIV-infected men under the age of 50 years. **Osteoporosis International**, v. 30, n. 7, p. 1501–1510, 1 jul. 2019.
- LAMPIGNANO, J. P.; KENDRICK, L. E.; DE BONTRAGER, T. **POSICIONAMIENTO RADIOGRÁFICO e ANATOMIA ASSOCIADA**. [s.l.: s.n.].
- LEE, J. S. et al. Observed CD4 counts at entry into HIV care and at antiretroviral therapy prescription by age in the USA, 2004-18: a cohort study. **The lancet. HIV**, v. 9 Suppl 1, p. S2, 1 mar. 2022.
- LORENZO-REDONDO, R. et al. Persistent HIV-1 replication maintains the tissue reservoir during therapy. **Nature**, v. 530, n. 7588, p. 51–56, 4 fev. 2016.
- MAARTENS, G.; CELUM, C.; LEWIN, S. R. HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. **Lancet (London, England)**, v. 384, n. 9939, p. 258–271, 2014.
- MALLON, P. W. G. Aging with HIV: osteoporosis and fractures. **Current opinion in HIV and AIDS**, v. 9, n. 4, p. 428–435, 2014.

- MAVIGNER, M. et al. Altered CD4⁺ T cell homing to the gut impairs mucosal immune reconstitution in treated HIV-infected individuals. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 1, p. 62–69, 3 jan. 2012.
- MEGERSO, A.; GAROMA, S. Comparison of survival in adult antiretroviral treatment naïve patients treated in primary health care centers versus those treated in hospitals: retrospective cohort study; Oromia region, Ethiopia. **BMC Health Services Research**, v. 16, n. 1, p. 1–7, 18 out. 2016.
- MIEDEMA, F. et al. Immune activation and collateral damage in AIDS pathogenesis. **Frontiers in immunology**, v. 4, n. SEP, 2013.
- MOCROFT, A. et al. Normalisation of CD4 counts in patients with HIV-1 infection and maximum virological suppression who are taking combination antiretroviral therapy: an observational cohort study. **The Lancet**, v. 370, 2007.
- MONDY, K. et al. Longitudinal evolution of bone mineral density and bone markers in human immunodeficiency virus-infected individuals. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 36, n. 4, p. 482–490, 15 fev. 2003.
- MONTAGNIER, L. Historical essay: A history of HIV discovery. **Science**, v. 298, n. 5599, p. 1727–1728, 29 nov. 2002.
- MORAN, C. A.; NEALE WEITZMANN, M.; OFOTOKUN, I. Bone Loss in HIV Infection. **Current treatment options in infectious diseases**, v. 9, n. 1, p. 52–67, mar. 2017.
- NASI, M. et al. **Ageing and inflammation in patients with HIV infection. Clinical and Experimental Immunology** Blackwell Publishing Ltd, , 1 jan. 2017.
- NEALE WEITZMANN, M. et al. Immune Reconstitution Bone Loss Exacerbates Bone Degeneration Due to Natural Aging in a Mouse Model. **The Journal of infectious diseases**, v. 226, n. 1, p. 38–48, 1 jul. 2022.
- NKAMBULE, B. B.; DAVISON, G. M.; IPP, H. The evaluation of platelet indices and markers of inflammation, coagulation and disease progression in treatment-naïve, asymptomatic HIV-infected individuals. **International journal of laboratory hematology**, v. 37, n. 4, p. 450–458, 2015.
- OFOTOKUN, I. et al. Role of T-cell reconstitution in HIV-1 antiretroviral therapy-induced bone loss. **Nature communications**, v. 6, 22 set. 2015.
- OFOTOKUN, I. et al. Antiretroviral Therapy Induces a Rapid Increase in Bone Resorption that is Positively Associated with the Magnitude of Immune Reconstitution in HIV Infection. **AIDS (London, England)**, v. 30, n. 3, p. 405, 1 jan. 2016.

- OFOTOKUN, I.; MCINTOSH, E.; WEITZMANN, M. N. HIV: inflammation and bone. **Current HIV/AIDS reports**, v. 9, n. 1, p. 16–25, mar. 2012.
- OKAMOTO, K. et al. Osteoimmunology: The Conceptual Framework Unifying the Immune and Skeletal Systems. **Physiological reviews**, v. 97, n. 4, p. 1295–1349, 1 out. 2017.
- OLIVEIRA, F. P. et al. Lower bone density and microarchitecture alterations in HIV-infected Brazilian men aged 50 years and older are associated with estradiol levels. **Clinical endocrinology**, v. 97, n. 1, 2022.
- PAIARDINI, M. et al. **Mucosal Immune Dysfunction in AIDS Pathogenesis Key words AIDS Reviews**. [s.l: s.n.].
- PANTALEO, G.; FAUCI, A. S. Immunopathogenesis of HIV infection. **Annual review of microbiology**, v. 50, p. 825–854, 1996.
- PARRY, R. V. et al. CTLA-4 and PD-1 Receptors Inhibit T-Cell Activation by Distinct Mechanisms. **Molecular and Cellular Biology**, v. 25, n. 21, p. 9543, 1 nov. 2005.
- PINTO, M. E.; STRUCHINER, C. J. A diversidade do HIV-1: uma ferramenta para o estudo da pandemia. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 3, p. 473–484, 2006.
- RAGGATT, L. J.; PARTRIDGE, N. C. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. **The Journal of biological chemistry**, v. 285, n. 33, p. 25103–25108, 13 ago. 2010.
- RICHARDSON, E. T.; GRANT, P. M.; ZOLOPA, A. R. **Evolution of HIV treatment guidelines in high- and low-income countries: Converging recommendations**. **Antiviral Research**, mar. 2014.
- RIDDLER, S. A. et al. **Antiretroviral Therapy Is Associated With an Atherogenic Lipoprotein Phenotype Among HIV-1-Infected Men in the Multicenter AIDS Cohort Study**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://support.sas.com/>>.
- ROSER-PAGE, S. et al. CTLA-4Ig-induced T cell anergy promotes Wnt-10b production and bone formation in a mouse model. **Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)**, v. 66, n. 4, p. 990–999, 2014.
- ROSER-PAGE, S. et al. CTLA-4Ig (abatacept) balances bone anabolic effects of T cells and Wnt-10b with antianabolic effects of osteoblastic sclerostin. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1415, n. 1, p. 21–33, 2018.
- SALARI, N. et al. The global prevalence of osteoporosis in the world: a comprehensive systematic review and meta-analysis. **Journal of orthopaedic surgery and research**, v. 16, n. 1, 1 dez. 2021.
- SCHOLZEN, T.; GERDES, J. The Ki-67 Protein: From the Known and the Unknown. **Journal of Cellular Physiology**, v. 182, p. 311–322, 2000.

- SHORT, C. E. S. et al. Prevalence of and risk factors for osteoporosis and fracture among a male HIV-infected population in the UK. **International Journal of STD and AIDS**, v. 25, n. 2, p. 113–121, fev. 2014.
- SILVA, P. R. L. , et al. Bone Mass, Fracture Risk and Associated Factors in Postmenopausal Women Living with HIV. **Menopause**, v. Submitted, 2023.
- SIMON, V.; HO, D. D.; KARIM, A. **HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment**www.thelancet.com. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.thelancet.com>.
- SINAN NET. **Doenças/Agravos - Casos confirmados e óbitos - Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado**. Disponível em: <https://www.fmt.am.gov.br/layout2011/vigiweb/vg_2022/Doencas_e_Agravoslist.asp>. Acesso em: 30 jul. 2023.
- STARUP-LINDE, J. et al. Management of Osteoporosis in Patients Living with HIV - A Systematic Review and Meta-analysis. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 83, n. 1, p. 1–8, 1 jan. 2020.
- STARUP-LINDE, J. et al. Management of Osteoporosis in Patients Living With HIV-A Systematic Review and Meta-analysis. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 83, n. 1, p. 1–8, 1 jan. 2020.
- STECKBECK, J. D.; KUHLMANN, A. S.; MONTELARO, R. C. **C-terminal tail of human immunodeficiency virus gp41: Functionally rich and structurally enigmatic**. **Journal of General Virology**, 1 jan. 2013.
- STONE, B. et al. **HIV and bone disease**. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, nov. 2010.
- TAI, X. et al. Basis of CTLA-4 function in regulatory and conventional CD4+ T cells. **Blood**, v. 119, n. 22, p. 5155, 5 maio 2012.
- TAKAYANAGI, H. Osteoimmunology and the effects of the immune system on bone. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 5, n. 12, p. 667–676, dez. 2009.
- TANAKA, Y. Clinical immunity in bone and joints. **Journal of bone and mineral metabolism**, v. 37, n. 1, p. 2–8, 25 jan. 2019.
- TEICHMANN, J. et al. Osteopenia in HIV-infected women prior to highly active antiretroviral therapy. **Journal of Infection**, v. 46, n. 4, p. 221–227, 2003.
- TITANJI, K. et al. T-cell receptor activator of nuclear factor- κ B ligand/osteoprotegerin imbalance is associated with HIV-induced bone loss in patients with higher CD4+ T-cell counts. **AIDS (London, England)**, v. 32, n. 7, p. 885–894, 24 abr. 2018.

- TITANJI, K.; OFOTOKUN, I.; WEITZMANN, M. N. Immature/transitional B-cell expansion is associated with bone loss in HIV-infected individuals with severe CD4+ T-cell lymphopenia. **AIDS (London, England)**, v. 34, n. 10, p. 1475–1483, 1 ago. 2020.
- TSAI, M. S. et al. Reduced bone mineral density among HIV-infected patients in Taiwan: prevalence and associated factors. **Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi**, v. 47, n. 2, p. 109–115, 2014.
- TURNER, R. J. et al. Comparison of peripheral blood mononuclear cell isolation techniques and the impact of cryopreservation on human lymphocytes expressing CD39 and CD73. **Purinergic Signalling**, v. 16, n. 3, p. 389–401, 1 set. 2020.
- TURNER, R. J. et al. Comparison of peripheral blood mononuclear cell isolation techniques and the impact of cryopreservation on human lymphocytes expressing CD39 and CD73. **Purinergic Signalling**, v. 16, n. 3, p. 389–401, 1 set. 2020.
- UNAIDS. **Estratégia Global para AIDS. Acabar com as Desigualdades. Acabar com a AIDS. UNAIDS**, 2021.
- UNAIDS. **Retrato do país em 2022**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnribpcajpcglclefindmkaj/https://unaids.org.br/wp-content/uploads/2023/08/2022-Snapshots-ENG-2022_PT_BR_VF.pdf>. Acesso em: 30 jul. 2023.
- UNAIDS. **Relatório Global do UNAIDS**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://unaids.org.br/estatisticas/>. Acesso em: 30 jul. 2023.
- WALKER HARRIS, V.; BROWN, T. T. **Bone loss in the HIV-infected patient: Evidence, clinical implications, and treatment strategies**. **Journal of Infectious Diseases**, 1 jun. 2012.
- WARRINER, A. H.; MUGAVERO, M.; OVERTON, E. T. Bone alterations associated with HIV. **Current HIV/AIDS reports**, v. 11, n. 3, p. 233–240, 1 set. 2014.
- WEISKOPF, D.; WEINBERGER, B.; GRUBECK-LOEBENSTEIN, B. **The aging of the immune system**. **Transplant International**, nov. 2009.
- WEITZMANN, M. N. The Role of Inflammatory Cytokines, the RANKL/OPG Axis, and the Immunoskeletal Interface in Physiological Bone Turnover and Osteoporosis. **Scientifica**, v. 2013, p. 1–29, 2013.
- WEITZMANN, M. N. T-cells and B-cells in osteoporosis. **Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity**, v. 21, n. 6, p. 461–467, 1 dez. 2014.
- WEITZMANN, M. N. Bone and the Immune System. **Toxicologic Pathology**, v. 45, n. 7, p. 911–924, 1 out. 2017.

- WING, E. J. HIV and aging. **International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases**, v. 53, p. 61–68, 1 dez. 2016.
- WING, K.; YAMAGUCHI, T.; SAKAGUCHI, S. Cell-autonomous and -non-autonomous roles of CTLA-4 in immune regulation. **Trends in Immunology**, v. 32, n. 9, p. 428–433, 1 set. 2011.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: report of a WHO study group. **World Health Organization (WHO)**, jun. 1992.

10.ANEXOS

ANEXO 1 – PARECER DO CEP

FUNDAÇÃO DE MEDICINA
TROPICAL "DOUTOR HEITOR
VIEIRA DOURADO"



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA DENSIDADE MINERAL ÓSSEA E COMPOSIÇÃO CORPORAL EM PESSOAS QUE VIVEM COM HIV ATENDIDOS NA FMT-HVD

Pesquisador: Taynná Vernalha Rocha Almeida

Área Temática:

Versão: 9

CAAE: 35104620.8.0000.0005

Instituição Proponente: Fundação de Medicina Tropical do Amazonas - FMT/IMT/AM

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.936.395

Apresentação do Projeto:

A osteoporose é uma doença caracterizada pela redução da massa óssea com possível deterioração do tecido, ruptura da arquitetura e/ou comprometimento da força óssea. O envelhecimento de pessoas que vivem com HIV (PVHIV), associado ao tratamento com antirretrovirais, aponta para um aumento na prevalência de doenças ósseas nessa população. Para tanto, surge a necessidade de coletar informações sobre a densidade mineral óssea (DMO) destes pacientes. Ademais, alterações metabólicas como dislipidemias, resistência insulínica, hiperglicemia e redistribuição da gordura corporal são frequentemente observadas em PVHIV em uso prolongado de terapia antirretroviral (TARV). Estas alterações possuem relação direta com problemas cardiovasculares, intolerância à glicose, diabetes mellitus e diminuição na densidade. Portanto, o objetivo do presente estudo é investigar se há redução da densidade mineral óssea, assim como descrever a composição corporal em pessoas que vivem com HIV. O estudo caracteriza-se por uma pesquisa do tipo observacional, prospectiva e translacional, na qual será avaliada a DMO e composição corporal de PVHIV em atendimento ambulatorial, por meio do exame de absorptometria com raios X de dupla energia (DXA). O trabecular bone score (TBS) será calculado após a realização dos exames. As características gerais, dados demográficos e resultados laboratoriais serão registrados para a análise de correlações. Os dados serão tabulados em banco de dados criado pelos pesquisadores no software Research Electronic Data Capture (RedCap), versão 8.11.7. O reconhecimento e a aceitação do problema são imprescindíveis para que

Endereço: Av. Pedro Teixeira, 25

Bairro: D. Pedro I

CEP: 69.040-000

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)2127-3572

Fax: (92)2127-3572

E-mail: cep@fmt.am.gov.br

ANEXO 2 – TCLE – PROTOCOLO DE PESQUISA



Versão do protocolo 4.0

24 de maio de 2021

Avaliação da densidade mineral óssea e composição corporal
em pessoas que vivem com HIV atendidos na FMT-HVD

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

“Avaliação da densidade mineral óssea e composição corporal em pessoas que vivem com HIV atendidos na FMT-HVD”

Nome do Voluntário: _____

O paciente acima referido teve atendimento ambulatorial na Fundação de Medicina Tropical - Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) por ser portador do vírus da imunodeficiência humana.

INTRODUÇÃO

Você está sendo convidado a autorizar sua participação (ou a participação do paciente em sua responsabilidade) em um estudo chamado **“Avaliação da densidade mineral óssea e composição corporal em pessoas que vivem com HIV atendidos na FMT-HVD”**. Nesta pesquisa estamos estudando o risco de diminuição da densidade dos ossos, ou seja, o risco de osteoporose e fraturas ósseas, além da possível redistribuição da gordura corporal em pacientes atendidos no ambulatório de HIV da FMT. Para que você possa decidir se quer participar ou não deste estudo, precisa conhecer seus benefícios, riscos e implicações:

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Se você autorizar a sua participação neste estudo, a equipe de coleta irá coletar 10 ml (uma colher de sopa) de sangue para exames. Para isso será feita uma punção venosa (retiradas de sangue da veia, geralmente do braço). As coletas serão realizadas no ambulatório da Fundação de Medicina Tropical em consultório específico para a demanda dos pacientes encaminhados pelo infectologista. Na sequência, iremos agendar em uma clínica parceira o exame de densitometria óssea sem custo algum. Esse exame terá duração de aproximadamente 15 minutos, e não há necessidade de nenhum preparo especial. As regiões estudadas para o exame são a coluna lombar, o fêmur (o osso do quadril/perna), o rádio (osso do antebraço) e o corpo total. É um exame indolor e com baixo uso de radiação ionizante (muito menos do que um raios X de tórax). Este estudo foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMT-HVD.

RISCOS

É possível que, durante a coleta da amostra você experimente algum desconforto referente a punção venosa que será realizada. Você pode sentir dor no local da punção e/ou manchas roxas que desaparecem com o tempo. Existe um risco potencial de quebra de sigilo devido ao atendimento ser realizado em um sistema eletrônico de prontuário e outros médicos e profissionais de saúde poderão ver os seus dados. Entretanto, todos os esforços serão realizados para que os dados sejam guardados de forma confidencial e não possam ser relacionados ao estudo que você participa. Como já citado, a radiação utilizada no exame é muito baixa, sendo muito inferior comparada aos exames radiológicos convencionais e



Versão do protocolo 4.0
24 de maio de 2021

Avaliação da densidade mineral óssea e composição corporal
em pessoas que vivem com HIV atendidas na FMT-HVD

inferior a dois dias de exposição à radiação natural (sol, equipamentos eletrônicos) presente no meio ambiente.

BENEFÍCIOS

A sua participação contribuirá para um melhor entendimento sobre a lipodistrofia, alterações metabólicas e eventual diminuição da densidade óssea em pessoas que vivem com HIV, auxiliando na prevenção de problemas cardiovasculares e fraturas ósseas.

CUSTOS E ASSISTÊNCIA

Não haverá nenhum custo para você ou seu familiar para a realização dos testes laboratoriais, atendimento médico, exames físicos e consultas relacionados ao estudo ou outros procedimentos. As despesas necessárias para a realização da pesquisa não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro. Você será acompanhado e receberá assistência prestada pelo Dr. Flávio Ribeiro, médico infectologista funcionário da FMT-HVD, nas segundas das 7h-11h e quartas-feiras das 07h-11h, no ambulatório de HIV/DIP e pela Dra. Simone Ferreira de Castro Botileiro, médica infectologista funcionária da FMT-HVD, nas terça-feira, das 14h-17h e sexta-feira, das 7h-11h, no ambulatório de HIV/DIP, segundo andar. Durante a participação neste estudo, você sempre terá como referência a responsável pela pesquisa Esp. Alessandra Paiva listada neste Termo de Consentimento. Você terá a garantia de que quaisquer problemas decorrentes do estudo, você será assistido, tratado e acompanhado na Fundação de Medicina Tropical, sem qualquer gasto, durante todo o tempo que for necessário. Da mesma forma, você, como participante, tem direito à indenização garantida caso ocorra algum dano permanente devido à participação nesse estudo.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

A sua participação neste estudo é totalmente voluntária e se você ou seu familiar não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e retirar o seu consentimento. Essa decisão não prejudicará de forma alguma o seu atendimento, tratamento ou acompanhamento na FMT-HVD. Caso decidir que quer interromper a participação no estudo, a equipe deverá ser informada e as coletas de material referentes à pesquisa serão interrompidas imediatamente.

ESCLARECIMENTOS

Se você tiver qualquer dúvida, ou se qualquer problema aparecer, você pode contatar a equipe do estudo ou o(a) pesquisador(a) responsável na instituição onde você está sendo acompanhado(a): A pesquisadora Alessandra Paiva estará à disposição no Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, situado na FMT-HVD no horário das 14:00 às 17:00h, de segunda a sexta-feira, pelo telefone: (92) 985477206 e e-mail: alessandra.paiva0@gmail.com ou o Pesquisador Paulo Afonso Nogueira estará à disposição no Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, situado na FMT-HVD no horário das 14:00 às 17:00h, de segunda a sexta-feira, pelo telefone: (92) 994851620 e e-mail: paulonogueirafiocruz@gmail.com, para esclarecer dúvidas que você ou seu familiar possa



Versão do protocolo 4.0
24 de maio de 2021

Avaliação da densidade mineral óssea e composição corporal
em pessoas que vivem com HIV atendidos na FMT-HVD

ter e dar as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo. Caso você queira contatar o comitê de ética responsável pela análise e aprovação ética do estudo, poderá contatar: **Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado**

Av. Pedro Teixeira, Dom Pedro, N° 25. CEP 69040-000

Telefone (92) 2127-3572

E-mail: cep@fnt.am.gov.br

Horário de Funcionamento: 2a a 6a de 08 às 14h

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO E ASSINATURA

- Li as informações acima e entendi o propósito deste estudo assim como os benefícios e riscos potenciais da participação no mesmo.
- Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, por meio deste documento, dou livremente o consentimento para participar do referido neste estudo.
- Entendo que o participante da pesquisa será submetido a exames laboratoriais e radiológicos necessários para seu tratamento e não receberei de forma alguma qualquer compensação financeira por sua participação neste estudo.
- Eu recebi uma cópia assinada deste formulário de consentimento.
- Também fui informado de que há interesse em guardar a amostra biológica por um período de 5 anos, no Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema (IPCCB) situado na FMT-HVD, em freezer a - 80°C. Após a conclusão do estudo, qualquer material remanescente será destruído de acordo com as boas práticas clínicas. Somente o investigador do laboratório poderá identificá-la no futuro e entendi as razões para isso, de forma que:

() Autorizo a guarda do material.

() Não autorizo a guarda do material.

(Assinatura do participante da pesquisa ou seu responsável)

___/___/___



___/___/___

(Impressão datiloscópica do participante da pesquisa ou seu responsável)



Versão do protocolo 4.0
24 de maio de 2021

Avaliação da densidade mineral óssea e composição corporal
em pessoas que vivem com HIV atendidos na FMT-HVD

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste estudo ao responsável pelo participante da pesquisa indicado acima.

(Assinatura do Pesquisador)

___/___/___

ANEXO 3 – Ficha de Coleta de Dados



FMT-HVD
Fundação de Medicina Tropical
Dr. Heitor Vieira Dourado



Instituto de Pesquisa Clínica
Carlos Borborema

PROJETO – IMUNOSSENESCÊNCIA

Nome: _____ Código: _____

Prontuário: _____ Telefone: _____

Nome social: _____ Data da Entrevista: ___/___/20___

DN: ___/___/___ Idade: _____ Peso: _____ Altura: _____

I. Sexo biológico:

1. () Masculino 2. () Feminino

II. Identidade de Gênero:

1. () Masculino 2. () Feminino 3. () Cisgênero 4. () Transgênero
5. () Não-binário

III. Orientação sexual:

1. () Heterossexual 2. () Homossexual 3. () Bissexual 4. () Pansexual
5. () Assexual

IV. Estado civil:

1. () solteiro (a) 2. () casado (a) ou em união estável 3. () viúvo(a)
4. () outros _____

V. Raça:

1. () branca 2. () preta 3. () amarela 4. () parda
5. () indígena Etnia: _____

VI Renda familiar:

1. () Sem renda
2. () Até 1 salário-mínimo
3. () Mais de 1 a 2 salários-mínimos
4. () Mais de 2 a 3 salários-mínimos
5. () Mais de 3 a 5 salários-mínimos
6. () Mais de 5 e 10 salários-mínimos
7. () Mais de 10 a 20 salários-mínimos
8. () Acima de 20 salários-mínimos

VII. Trabalho / Ocupação

1. () Em atividade (Empregado CLT)
2. () Desempregado
3. () Aposentado por tempo de serviço
4. () Aposentado por doença ou invalidez
5. () Autônomo
6. () Do lar



Ministério da Saúde
FIUCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ILMD INSTITUTO LEONIDAS
& MARIA DEANE
Fiocruz Amazônia



FMT-HVD
Fundação de Medicina Tropical
Dr. Heitor Vieira Dourado



Instituto de Pesquisa Clínica
Carlos Borborema

VIII. Escolaridade:

1. () Nenhuma
2. () Ensino fundamental incompleto
3. () Ensino fundamental completo
4. () Ensino Médio Incompleto
5. () Ensino Médio completo
6. () Ensino superior incompleto
7. () Ensino superior completo
8. () Pós-graduação

IX. Data do diagnóstico: ___/___/___

X. CD4 no diagnóstico: _____

XI. Carga viral no diagnóstico: _____

XII. CD4 no estudo (dia da triagem): _____

XIII. Carga viral no estudo (dia da triagem): _____

XIV. Exposição a substâncias:

1. () Não
2. () Sim.

XV. Quais substâncias já foram utilizadas?

1. () Álcool
2. () Tabaco
3. () Crack
4. () Maconha
5. () Cocaína
6. () Anfetaminas
7. () LSD
8. () Éxtase
9. () Outros _____

XVI. Tempo de exposição às substâncias de abuso: _____

XVII. Última exposição: _____

XVIII. Doenças oportunistas prévias:

1. () Não
2. () Sim.

XIX. Quais doenças oportunistas prévias?

1. () Não se aplica
2. () Neurotoxoplasmose
3. () Tuberculose
4. () Sífilis
5. () Criptococose
6. () CMV
7. () Linfoma de SNC
8. () HTLV
9. () Hepatite: 1.A () 2.B () 3.C ()
10. () Outras. Quais? _____



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ILMD INSTITUTO LEÔNIDAS
& MARIA DEANE
Fiocruz Amazônia



FMT-HVD
Fundação de Medicina Tropical
Dr. Heitor Vieira Dourado



Instituto de Pesquisa Clínica
Carlos Borborema

XX. Comorbidades:

1. () Não
2. () Sim

XXI. Quais comorbidades?

1. () Não se aplica
2. () HAS
3. () DM
4. () Depressão
5. () Transtorno de ansiedade
6. () Neoplasias Qual? _____
7. () Diarreia 1. () aguda 2. crônica ()
8. () AVC 1. () Isquêmico 2. Hemorrágico ()
9. () Outros. Quais? _____

XXII. Outras medicações em uso?

1. () Não 2. () Sim.

XXIII. Quais as medicações em uso?

1. () Não se aplica
2. () Anti-Hipertensivos
3. () Imunossupressores
4. () Corticoides
5. () Anticonvulsivantes
6. () Anti-depressivos
7. () Anti-psicóticos
8. () Sedativos
9. () Hipoglicemiantes orais
10. () Insulina
11. () Estatinas
12. () Fibratos
13. () Levotiroxina
14. () Outros _____

XXIV. Paciente está em uso de TARV?

1. () Não 2. () Sim. Qual? _____

XXV. O esquema TARV atual é o mesmo nos últimos 2 anos?

1. () Não se aplica 2. () Não 3. () Sim



Ministério da Saúde
FIUCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ILMD INSTITUTO LEÔNIDAS
& MARIA DEANE
Fiocruz Amazônia



FMT-HVD
Fundação de Medicina Tropical
Dr. Heitor Vieira Dourado



Instituto de Pesquisa Clínica
Carlos Borborema

XXVI. Houve troca de esquema nos últimos 2 anos?

1. () Não se aplica 2. () Sim. 2.1. () Intolerância 2.2. () Falha terapêutica

XXVII. Quantas vezes trocou? _____

XXVIII. Genotipagem?

1. () Não 2. () Sim. Se sim, data: ____ / ____ / ____

XXIX. Esquemas anteriores: _____

XXX. Internação nos últimos 5 anos?

1. () Não 2. () Sim. Quantas? _____



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ILMD INSTITUTO LEÔNIDAS
& MARIA DEANE
Fiocruz Amazônia