

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA**



TESE DE DOUTORADO

**EFICÁCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÁCIDO FOLÍNICO SOBRE A
FUNÇÃO ENDOTELIAL DE INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO HIV E
HIV-HCV: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO CONTROLADO POR
PLACEBO**

FÁBIO LOPES PEDRO

Orientadora: Prof^a. Dra. Sandra Costa Fuchs

Porto Alegre, Março de 2015.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA**



TESE DE DOUTORADO

**EFICÁCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÁCIDO FOLÍNICO SOBRE A
FUNÇÃO ENDOTELIAL DE INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO HIV E
HIV-HCV: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO CONTROLADO POR
PLACEBO**

FÁBIO LOPES PEDRO

Orientadora: Prof^a. Dra Sandra Costa Fuchs

A apresentação desta Tese é exigência do Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Porto Alegre, Brasil.

2015

CIP - Catalogação na Publicação

LOPES PEDRO, FABIO

EFICÁCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÁCIDO FOLÍNICO
SOBRE A FUNÇÃO ENDOTELIAL DE INDIVÍDUOS INFECTADOS
PELO HIV E HIV-HCV: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO
CONTROLADO POR PLACEBO / FABIO LOPES PEDRO. -- 2015.
77 f.

Orientadora: SANDRA COSTA FUCHS.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
Graduação em Epidemiologia, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. HIV/AIDS. 2. Disfunção endotelial. 3. Hepatite
C (HCV). 4. Ácido fólico. 5. Dilatação mediada pelo
Fluxo (FMD). I. COSTA FUCHS, SANDRA, orient. II.
Título.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Nemora Tregnago Barcellos, Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Prof. Dr. Fernando Herz Wolff, Programa de Pós-Graduação em Gastroenterologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Prof. Dr. Paulo Fernando Dotto Bau, Departamento de Clínica Médica da Universidade Federal de Santa Maria.

Dedico a minha esposa, Vanessa da Silva Rigo:

Por ser a companheira ideal;

Por me tornar tão especial;

Por me incentivar nos momentos difíceis.

Meu grande amor,

Minha vida.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, irmãos, sogros e demais familiares. Em especial à minha querida irmã Cecília Mariane, que me acompanhou nos dias de trabalho mais árduos. Minha família é fundamental.

Agradeço aos colegas de trabalho e amigos, Helen Minussi Cezimbra, Querino Haesbaert, Fernanda Franchini, Luiz Felipe Barin e Pedro Rafael Magno. Todos foram essenciais para este trabalho, na adequada coleta de dados e nos cuidados com nossos pacientes.

Àqueles que muitas vezes abriram as portas de seus lares para me receber em Porto Alegre, em especial minha irmã Fabiane Lea e meu amigo Leandro Moreira.

Ao Professor e amigo Dr Alexandre Naujorks, que viabilizou a realização deste estudo.

Aos Professores participantes desta banca examinadora.

Aos meus pacientes que todos os dias lutam pela vida, e contribuíram decisivamente para este estudo.

Aos colegas e funcionários do Hospital Universitário de Santa Maria, especialmente do ambulatório e do laboratório central, representados pelo Sr Elehu Moura de Oliveira, e farmacêuticos Eliane Santini Machado, Miriam Cassol Lopes e Miguel Roehrs.

À Professora Sandra Costa Fuchs:

Trabalho, compromisso, dedicação, disponibilidade. São apenas algumas das virtudes de uma pessoa com capacidade de ensinar e colaborar no crescimento profissional de seus orientandos. Sou eternamente grato.

E, finalmente, ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, que através de organização e adequada estrutura física e humana, viabiliza a boa formação de seus alunos, lhes proporcionando novos rumos em suas vidas.

SUMÁRIO

ABREVIATURAS E SIGLAS	7
LISTA DE TABELAS, FIGURAS E QUADROS	8
RESUMO	9
ABSTRACT	11
1 - APRESENTAÇÃO	13
2 - INTRODUÇÃO	14
3 – REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1 INFECÇÃO PELO HIV E HCV	15
3.1.1 Epidemiologia do HIV	15
3.1.2 Epidemiologia do HCV	16
3.1.3 Coinfecção HIV-HCV	17
3.1.4 Terapia antirretroviral altamente potente	17
3.2 DISFUNÇÃO ENDOTELIAL EM PORTADORES DO HIV E/OU HCV	19
3.2.1 HIV e Dislipidemia.....	19
3.2.2 Disfunção endotelial e HIV	21
3.2.3 HCV e dislipidemia	21
3.3 ACIDO FOLICO E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL.....	22
3.3.1 Ácido fólico	22
3.3.2 Ácido fólico e homocisteína	24
3.3.3 Suplementação de ácido fólico e efeitos na disfunção endotelial	27
4 - JUSTIFICATIVA.....	31
5 - OBJETIVOS.....	32
5.1 OBJETIVOS GERAIS	32
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
7 – ARTIGOS.....	41
7.1 ARTIGO 1	41
7.2 ARTIGO 2	57
8 – CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	71
9 – ANEXOS	72
A. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	72
B. APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA	75
C. APROVAÇÃO PELA DIREÇÃO DE ENSINO E PESQUISA.....	76
D. TERMO DE CONFIDENCIALIDADE.....	77

ABREVIATURAS E SIGLAS

- AF – ácido fólico ou ácido folínico
- AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
- CD4 - grupamento de diferenciação 4 (*cluster of differentiation*)
- DAC - doença arterial coronariana
- DCV – doença cardiovascular
- DNA – ácido desoxirribonucleico
- ECR - Ensaio clínico randomizado
- eNOS - óxido nítrico endotelial Sintase
- ERF - Escore de Risco de Framingham
- FMD - vasodilatação mediada pelo fluxo
- g/dl – grama por decilitro
- HCV – Hepatite C crônica ou vírus da hepatite C
- HDL - lipoproteínas de alta densidade
- HIV - vírus da imunodeficiência humana
- IAM – infarto agudo do miocárdio
- IC - Intervalo de confiança
- INTR - Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa
- IPs – inibidores de protease
- LDL - lipoproteínas de baixa densidade
- mcg - micrograma
- min. – minuto
- mg - miligrama
- ml – mililitro
- mmHg - milímetros de mercúrio
- mm³ – milímetro cúbico
- NCEP – *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III*
- nm - nanômetro
- TARV – terapia antirretroviral
- THF - tetrahidrofolato
- TG – triglicerídeos
- UNAIDS – *Joint United Nations Programme of HIV/AIDS*

LISTA DE TABELAS, E QUADROS

Quadros

Quadro 1 - Parâmetros para início da terapia antirretroviral.....	18
-------------------------------------------------------------------	----

Tabelas

Tabela 1 - Valores de LDL conforme recomendação NCEP.....	20
-----------------------------------------------------------	----

Tabela 2 - Populações alvo para triagem de homocisteína sérica.....	25
---------------------------------------------------------------------	----

Figuras

Figura 1 – Papel do ácido fólico na cardioproteção.....	24
---------------------------------------------------------	----

Figura 2 – Mecanismos de ação do ácido fólico.....	27
----------------------------------------------------	----

RESUMO

Contexto: A suplementação de ácido fólico (AF) melhora a função endotelial de indivíduos infectados pelo HIV em uso contínuo de terapia antirretroviral (TARV). A literatura não demonstra com clareza esse benefício em indivíduos coinfectados HIV-HCV.

Introdução: Indivíduos infectados pelo HIV ou em coinfecção pelo HIV-HCV apresentam um conjunto de fatores de risco que podem levar a disfunção endotelial. Estudos demonstram que a administração de AF possui efeitos benéficos sobre a função endotelial de diferentes populações com risco cardiovascular, inclusive em HIV mono infectados.

Objetivo: Determinar o efeito da suplementação de AF por quatro semanas sobre a dilatação mediada (FMD) pelo fluxo da artéria braquial em indivíduos infectados pelo HIV ou HIV-HCV em uso contínuo de TARV.

Delineamento: Ensaio clínico randomizado (ECR), controlado por placebo.

Local: Ambulatório de doenças infecciosas do Hospital Universitário de Santa Maria.

População: Foram avaliados 69 indivíduos com idade entre 18-50 anos, de ambos os sexos, infectados pelo HIV com ou sem coinfecção pelo HCV, em TARV e com carga viral indetectável há mais de seis meses. Excluíram-se participantes com diabetes mellitus, infarto agudo do miocárdio, revascularização miocárdica, ou acidente vascular encefálico prévios, com creatinina >1,5 mg/dL, diagnóstico clínico, ecográfico, endoscópico ou laboratorial de cirrose hepática, em uso de estatinas, fibratos, terapia de reposição hormonal, sulfonamidas, suplementos vitamínicos, ou AF nos últimos 30 dias. Adicionalmente foram excluídas mulheres grávidas, e participantes de outro ECR.

Intervenção: Indivíduos alocados para o grupo intervenção receberam AF, 5 mg, via oral, em dose única diária, pela manhã, durante quatro semanas. Os participantes alocados para grupo placebo receberam orientação para seguir a mesma posologia, sendo os comprimidos indistinguíveis em cor, aroma, sabor, forma e tamanho.

Desfechos: Utilizaram-se as variações nos níveis de homocisteína, vitamina B12 e na FMD, aferida por Doppler, na artéria braquial, obtidos na randomização e ao final do seguimento.

Resultados: Realizou-se o rastreamento de 239 participantes, sendo 72 elegíveis, 69 randomizados e 68 acompanhados, entre outubro de 2012 e julho de 2013. Em indivíduos infectados pelo HIV houve aumento significativo nos níveis de AF (12,8 ng/ml) no grupo intervenção em comparação ao placebo ($P<0,001$), acompanhada de variação negativa de homocisteína (-1,9 $\mu\text{mol/l}$) no grupo intervenção e aumento mínimo no grupo placebo ($P<0,001$). Não houve variação significativa na FMD ($P=0,9$). Entre indivíduos coinfectados

por HIV-HCV, a variação nos níveis de AF foi decorrente da elevação no grupo intervenção (12,6 ng/ml) e redução no grupo placebo (-0,7 ng/ml) ($P < 0,001$). Os níveis de homocisteína aumentaram no grupo placebo (4,6 umol/l) e diminuíram no grupo intervenção (-1,0 umol/l) ($P < 0,0003$). Em relação ao FMD, houve tendência à redução percentual no grupo intervenção e aumento no grupo placebo ($P = 0,007$). As variações de vitamina B12 não foram significativas, independente do status de infecção para HCV.

Conclusão: Esse estudo demonstrou que a suplementação de AF por um curto período de tempo, esteve associada com redução de homocisteína sérica, mas não modificou a FMD da artéria braquial, aferida por Doppler, em indivíduos adultos infectados pelo HIV ou HIV-HCV em uso de TARV.

Palavras chave: HIV/AIDS, Disfunção endotelial, HCV, FMD, Homocisteína, Ácido Fólico.

ABSTRACT

Context: The supplementation of folic acid (FA) improves endothelial function in HIV-infected individuals in continuous use of highly active antiretroviral therapy (HAART). The literature does not clearly show this benefit in coinfecting HIV-HCV.

Introduction: Individuals infected with HIV or HIV-HCV coinfecting presents a set of risk factors that can lead to endothelial dysfunction. Studies show that FA management has beneficial effects on endothelial function in different populations with cardiovascular risk, including HIV monoinfected.

Objective: To determine the effect of FA supplementation for four weeks on the mediated dilation (FMD) by brachial artery flow in patients infected with HIV or HIV-HCV continuous HAART.

Design: Randomized clinical trial (RCT), placebo-controlled study.

Location: Division of Infectious Diseases, University Hospital of Santa Maria.

Population: A total of 69 subjects aged 18-50 years, of both sex, HIV or HIV-HCV infected, on HAART, with undetectable viral load for more than six months. Patients presenting with diabetes mellitus, acute myocardial infarction, coronary revascularization, or stroke prior, with creatinine >1,5 mg/dL, clinical diagnosis, ultrasound, endoscopic or laboratory evidence of liver cirrhosis, on statins, fibrates, hormone replacement therapy, sulfonamides, vitamin supplements, or FA in the last 30 days. In addition pregnant women were excluded, and participants in a RCT.

Intervention: Subjects allocated to the intervention group received FA, 5 mg orally once daily in the morning for four weeks. Participants allocated to placebo group were instructed to follow the same dosage, being indistinguishable tablets in color, aroma, taste, shape and size.

Outcomes: changes were used in the levels of homocysteine, vitamin B12 and FMD, measured by Doppler, in the brachial artery obtained at randomization and at the end of follow-up.

Results: We carried out the screening of 239 participants, 72 eligible, 69 randomized and 68 accompanied, between October 2012 and July 2013. In HIV-infected patients there was a significant increase in the levels of FA (12.8 ng/ml) in the intervention group compared to placebo (P <0.001), accompanied by negative variation of homocysteine (1.9 umol/L) in the group intervention and minimal increase in the placebo group (P <0.001). There was no significant change in FMD (P = 0.9). Between individuals coinfecting with HIV-HCV, the variation in FA levels was due to the increase in the intervention group (12.6 ng/ml) and

reduction in the placebo group (-0.7 ng / ml) ($P < 0.001$). Homocysteine levels increased in the placebo group (4.6 $\mu\text{mol/L}$) and decreased in the intervention group (-1.0 $\mu\text{mol/L}$) ($P < 0.0003$). Regarding the FMD, there was a tendency to percentage reduction in the intervention group and increased in the placebo group ($P = 0.007$). Variations of B12 were not significant, independent of HCV infection status.

Conclusion: This study showed that AF supplementation for a short term, was associated with reduced serum homocysteine, but did not change the FMD of the brachial artery, measured by Doppler in adults infected with HIV or HIV-HCV in HAART .

Keywords: HIV/AIDS, endothelial dysfunction, HCV, FMD, Homocysteine, Folic Acid.

1. APRESENTAÇÃO

Este trabalho consiste na Tese de Doutorado intitulada “Eficácia da Suplementação com Ácido Folínico sobre a função endotelial de indivíduos infectados pelo HIV e HIV-HCV: Ensaio Clínico Randomizado”, e será apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em 12 de março de 2015. O trabalho é apresentado em três partes, na ordem que segue:

1. Introdução, Revisão da Literatura, Justificativa, e Objetivos.
2. Artigos.
3. Conclusões e Considerações Finais.

Documentos de apoio, incluindo o Projeto de Pesquisa, estão apresentados nos anexos.

2. INTRODUÇÃO

A introdução da terapia antirretroviral (TARV) provocou aumento marcante na sobrevida dos indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), reduzindo a mortalidade por infecções oportunistas (The CASCADE Collaboration, 2000). Por outro lado, a maior sobrevida possibilitou maior exposição a fatores de risco acarretando aumento na morbidade e mortalidade associada à doença cardiovascular (DCV) (Friis-Møller *et al.*, 2003). Além disso, a administração de TARV está associada com efeitos adversos como lipodistrofia (Carr *et al.*, 2000; Heath, *et al.*, 2001), intolerância a glicose (Alencastro *et al.*, 2011), diabetes mellitus (Nix & Tien, 2014), síndrome metabólica (Alencastro *et al.*, 2011; Alencastro *et al.*, 2012; Nix & Tien, 2014) e dislipidemia (Heath, *et al.*, 2001; Sekhar, 2015). O aumento de risco cardiovascular também foi evidenciado em indivíduos infectados pelo vírus da hepatite C (HCV) (Ishizaka *et al.*, 2003). Estudo de coorte mostrou que infecção pelo HCV associa-se ao desenvolvimento de aterosclerose carotídea (Ishizaka *et al.*, 2003; Adinolfi *et al.*, 2014), assim como insuficiência cardíaca (Adinolfi *et al.*, 2014) e acidente vascular encefálico (Adinolfi *et al.*, 2014). Em indivíduos não infectados pelo HIV, dislipidemia está associada com desenvolvimento de aterosclerose e suas complicações, como infarto agudo do miocárdio (IAM) (Bostom *et al.*, 1996) e doença arterial coronariana (DAC) (Gordon *et al.*, 1989; Castelli *et al.*, 1986). Porém, não está completamente elucidado se, em indivíduos infectados pelo HIV, o desenvolvimento de aterosclerose ocorre através dos mesmos mecanismos (Carr, *et al.*, 2000).

A disfunção endotelial é um evento precoce e fundamental para o desenvolvimento de aterosclerose (Deanfield *et al.*, 2007; Masia *et al.*, 2007). Disfunção endotelial atua precocemente na aterogênese, no comportamento dinâmico da placa e como preditor de eventos cardiovasculares futuros, podendo, assim, ser alvo de terapia preventiva (Deanfield *et al.*, 2007; Yeboah *et al.*, 2007). Níveis elevados de homocisteína foram associados com um aumento no risco para doenças vasculares ateroscleróticas, por induzir lesões no endotélio vascular (Eikelboom *et al.*, 1999; Wald *et al.*, 2002) independentemente dos fatores de risco tradicionais (Boushey *et al.*, 1995). O ácido fólico (AF) ou seu precursor (ácido folínico), por ser um cosubstrato na via de remetilização do metabolismo da homocisteína, promove a redução dos níveis de homocisteína no plasma (Boushey *et al.*, 1995).

ECR realizados na última década mostraram benefícios na redução do dano endotelial com a suplementação de AF e redução de homocisteína (Thambyrajah *et al.*, 2001; Mangoni *et al.*, 2002; Moat *et al.*, 2006; Yilmaz *et al.*, 2007), ou independentemente da redução de

homocisteína (Doshi *et al.*, 2002; Anderson *et al.*, 2006; Title *et al.*, 2006; Moens *et al.*, 2007). Contudo, a hipótese de que a suplementação de AF melhore a função endotelial e diminua a concentração de homocisteína plasmática em indivíduos com DAC permanece controversa. Em duas metanálises, os autores concluíram que a redução de homocisteína através da suplementação com AF não cursou com redução consistente de risco cardiovascular (Miller *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2012). Na terceira metanálise, a suplementação de AF melhorou significativamente a função endotelial e reduziu a concentração de homocisteína plasmática em indivíduos com DAC (Yiet *et al.*, 2014), mas não foram avaliados desfechos cardiovasculares. Finalmente, ECR, em portadores do HIV, mostrou que a suplementação de AF reduziu os níveis de homocisteína e melhorou a função endotelial (Grigoletti *et al.*, 2013). Portanto, cabe reafirmar o efeito benéfico da suplementação de AF em indivíduos HIV, e determinar seu efeito nos indivíduos coinfectados, uma vez que o HCV pode atuar como fator promotor de disfunção endotelial.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 INFECÇÃO PELO HIV E HCV

3.1.1 Epidemiologia do HIV

Globalmente, estima-se que até o final de 2012 cerca de 35 milhões de pessoas vivam com HIV (UNAIDS, 2013). No Brasil, estima-se que 530 a 660 mil pessoas sejam portadoras do HIV, com uma prevalência de 0,4 a 0,5% na população geral, 5% entre os profissionais do sexo e 6% entre os usuários de drogas injetáveis (Brasil, 2012). O estado do Rio Grande do Sul é o primeiro no ranking de taxa de incidência de casos de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), perfazendo um total de 40,2 casos por 100.000 habitantes no ano de 2011 (Brasil, 2013). Entre os indivíduos com infecção pelo HIV através do uso de drogas injetáveis, estima-se que cerca de 30% estejam coinfectados pelo HCV (Brasil, 2012).

O uso de TARV na população infectada pelo HIV pode ser recente para que se possam avaliar efeitos em longo prazo da doença e do seu tratamento, especialmente na avaliação de efeitos adversos, toxicidade metabólica e risco cardiovascular (Falutz, 2011).

3.1.2 Epidemiologia do HCV

Até 1975, apenas os vírus das hepatites A e B eram conhecidos. Naquele ano foi identificada, pela primeira vez, a associação entre hepatite e transfusão sanguínea e foi caracterizado que essa hepatite não era causada por nenhum desses dois vírus (Hagedorn, 2000). Essa nova forma de hepatite foi denominada hepatite não-A não-B. Em 1989, o vírus da hepatite não-A não-B foi identificado e isolado pela primeira vez e recebeu o nome de vírus da hepatite C (Hagedorn, 2000).

Estimativas da Organização Mundial de Saúde indicam que aproximadamente 3% da população mundial pode estar infectada pelo HCV, quatro milhões de pessoas sejam infectadas por ano, e que 123 a 150 milhões de indivíduos infectados estejam em risco de desenvolver complicações da doença, como cirrose ou câncer de fígado (Organização Mundial de Saúde, 2014). A estimativa global é que mais de 350.000 pessoas morram de doenças relacionadas ao HCV a cada ano (Organização Mundial de Saúde, 2014). Entre as nações desenvolvidas, as taxas de soroprevalência populacional para o HCV são relativamente baixas, incluindo: Alemanha (0,6%), Canadá (0,8%), França (1,1%) e Austrália (1,1%) (Shepard, Finelli e Alper, 2005). Taxas baixas, mas ligeiramente mais elevadas de soroprevalência para infecção pelo HCV foram relatadas nos EUA (1,8%), Japão (1,5 - 2 - 3%), e Itália (2,2%) (Shepard, Finelli & Alper, 2005).

No Brasil, boletim epidemiológico sobre hepatites virais mostrou positividade de 1,38% (Intervalo de confiança [IC] 95%: 1,12%-1,64%) para anticorpos anti-HCV, em população que reside nas capitais brasileiras (Brasil, 2011). O percentual de expostos ao HCV na faixa etária de 10 a 19 anos foi de 0,75% (IC 95%: 0,53% - 0,98%) e de 1,56% (IC 95%: 1,28% - 1,91%) para o grupo de 20 a 69 anos (Brasil, 2011). Entre 69.952 casos de infecção pelo HCV notificados, entre 1999 e 2010, 90% eram originários das regiões sul e sudeste. Destaca-se que a maior parte dos casos era proveniente de São Paulo (58,7%) sendo que o 13,1% eram do Rio Grande do Sul. Entre 2007-2010, 11,4% dos portadores do HCV eram coinfectados pelo HIV (Brasil, 2011).

A infecção aguda pelo HCV induz resposta imune inata e adaptativa, capaz de eliminar 15-20% das infecções (Hagedorn, 2000). A falha no *clearance* viral leva a uma infecção persistente, associada com dano hepático crônico progressivo (Hagedorn, 2000). A morbimortalidade da infecção pelo HCV é principalmente relacionada à doença hepática terminal e ao hepatocarcinoma (Hagedorn, 2000). Contudo, a infecção está associada com a

regulação do metabolismo glicêmico e lipídico, levando os indivíduos ao desenvolvimento de síndrome metabólica e diabetes mellitus (Negro, 2010).

3.1.3 Coinfecção HIV-HCV

A coinfecção com HCV é prevalente entre os indivíduos infectados pelo HIV, sendo uma das maiores causas de morbimortalidade nessa população (Eslam *et al.*, 2011). Dada à semelhança nas vias de contaminação e a cronicidade dos dois vírus, estima-se que 15-31% dos portadores de HIV estejam coinfectados pelo HCV, perfazendo 5,25-10,5 milhões de coinfectados até o final de 2012 (Wolff *et al.*, 2010; Eslam *et al.*, 2011). A proporção de coinfecção varia também conforme a via de exposição, podendo apresentar uma prevalência de 90% de coinfecção HIV-HCV em países em que o uso de drogas injetáveis é a principal via de transmissão (Bräu *et al.*, 2005). As taxas de prevalência de coinfecção, a distribuição dos genótipos do HCV, bem como a frequência de resolução espontânea da hepatite C em infectados com o HIV apresentam disparidade a nível mundial (Wolff *et al.*, 2010). No sul do Brasil quase 60% dos portadores estão infectados por genótipo 2 ou 3 (Paraboni *et al.*, 2012). Um estudo transversal, com 1.143 participantes com infecção pelo HIV, em acompanhamento em um centro de referência ambulatorial para HIV/AIDS no sul do Brasil, detectou 31,2% de coinfecção HIV-HCV, e o genótipo 1 correspondeu a 81,5% das amostras testadas (Wolff *et al.*, 2010).

3.1.4 Terapia antirretroviral altamente potente

A instituição da TARV não tem o objetivo de erradicar a infecção pelo HIV, mas diminuir sua morbidade e mortalidade, melhorando a qualidade e a expectativa de vida das pessoas que vivem com HIV/AIDS (Montaner *et al.*, 2014; Thompson *et al.*, 2010). Definir o melhor momento para o início de TARV é uma das decisões mais importantes no acompanhamento clínico, devendo ser considerados os riscos associados à infecção não tratada frente aos da exposição prolongada a TARV (Brasil, 2013). Desde o surgimento dos primeiros esquemas antirretrovirais, busca-se definir critérios para início da TARV guiados pelo estado imunológico (contagem de linfócitos CD4), com base nas estimativas de risco de infecções oportunistas, evolução para AIDS e óbito (Emery *et al.*, 2008). Entretanto, já existem evidências de que, mesmo em indivíduos assintomáticos, com contagem elevada de células CD4, a replicação viral e a ativação imune crônica estão associadas ao

desenvolvimento de doenças não tradicionalmente relacionadas à infecção pelo HIV, tais como eventos cardiovasculares (Brasil, 2013; Emery *et al.*, 2008).

O desenvolvimento de novos antirretrovirais e a administração combinada levaram ao aumento progressivo nas taxas de resposta terapêutica (Sterne *et al.*, 2005). Moore e colaboradores, em estudo de coorte de seguimento de seis anos, mostraram que aproximadamente 80% dos usuários alcançam carga viral plasmática indetectável após um ano de tratamento e que a supressão viral se mantém ao longo do tempo, demonstrando durabilidade tanto para terapia inicial quanto para esquemas de resgate (Moore *et al.*, 2005).

O protocolo brasileiro indica início de TARV, independente da contagem de células CD4, para indivíduos com DCV estabelecida ou risco cardiovascular elevado (acima de 20%, segundo o Escore de Risco de Framingham [ERF]) (Brasil, 2013). Esta orientação esta de acordo com as recomendações da Sociedade Internacional de AIDS, que desde 2008 sugere início precoce de TARV para indivíduos com DCV (Thompson *et al.*, 2010). O quadro 1 resume os critérios adotados no Brasil, para indicar início de TARV.

Status clínico e imunológico	Recomendação
Sintomáticos	
Independente da contagem de células CD4	Iniciar TARV
Assintomáticos	
Contagem de células CD4 ≤ 500 cels/mm ³	Iniciar TARV
Contagem de células CD4 > 500 cels/mm ³	Recomendar TARV na coinfeção HIV-Hepatite B, com indicação de tratamento da hepatite; Considerar TARV nas situações: - neoplasias não definidoras de AIDS com indicação de quimioterapia ou radioterapia - doença cardiovascular estabelecida ou risco cardiovascular elevado
Contagem de células CD4 indisponível	Não iniciar TARV
Gestantes	
Independente da contagem de células CD4	Iniciar TARV
Parceiro sorodiscordante	
Independente da contagem de células CD4	Oferecer TARV visando reduzir transmissão, e considerando a motivação do parceiro.

Quadro 1. Parâmetros clínicos, imunológicos e situações especiais para início da TARV.

Adaptado de: BRASIL. Ministério da Saúde, 2013.

No estudo SMART, os participantes que suspenderam TARV tiveram maior frequência de evento cardiovascular e óbito quando comparados ao grupo em uso adequado de TARV (Phillips *et al.*, 2008). Além disso, pacientes que iniciaram TARV melhoraram significativamente a função endotelial, ainda que na vigência de dislipidemia, especialmente àqueles em uso de inibidores de protease (IPs) (Hürlimann *et al.*, 2005).

O impacto da TARV sobre a função endotelial foi mostrada no “*AIDS Clinical Trials Group - ACTG*” (Torriani *et al.*, 2008), através da avaliação de 82 participantes, em média com 35 ± 5 anos de idade, 91% do sexo masculino e 54% de cor branca. No início do estudo, a FMD foi 3,68%. Após quatro e vinte e quatro semanas de início da TARV, a FMD aumentou 0,74% ($p < 0,003$) e 1,48% ($p < 0,001$), respectivamente (Torriani *et al.*, 2008).

3.2 DISFUNÇÃO ENDOTELIAL EM PORTADORES DO HIV E/OU HCV

3.2.1 HIV e Dislipidemia

Dados recentes levantaram preocupações de que TARV está associada à manifestação precoce da DAC (Hürlimann *et al.*, 2005). Em particular, os IP têm sido associados a alterações metabólicas, tais como a resistência à insulina, anomalias do metabolismo de lípidos e lipodistrofia, e favorecimento do processo de calcificação de artérias coronárias (Hürlimann *et al.*, 2005).

Mesmo antes do advento da TARV, já haviam sido descritas alterações desfavoráveis do perfil lipídico como diminuição dos níveis séricos de colesterol total (CT), e de suas frações de alta densidade (HDL), ou baixa densidade (LDL), elevação de triglicerídeos (TG), além de perda da função anti-aterogênica do HDL (Falutz, 2011). Esses eventos são atribuídos à inflamação crônica, e igualmente descritos em outros estados pró-inflamatórios, com aumento do catabolismo dessas partículas, perda ponderal e piora do estado nutricional dos pacientes (Falutz, 2011). Ocorre apoptose do tecido adiposo periférico, com lipoatrofia periférica e lipohipertrofia visceral, aumentando o aporte de ácidos graxos livres ao fígado e a síntese hepática de triglicerídeos (Falutz, 2011). A adição de drogas antirretrovirais apenas agrava estas alterações (Falutz, 2011). Os antirretrovirais aumentam o LDL, principalmente suas porções pequenas e densas, mas pouco aumentam o HDL. Os IPs e os Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (INTR), inibem a DNA polimerase mitocondrial, levando a depleção de DNA mitocondrial e disfunção respiratória mitocondrial (Falutz, 2011).

Essas alterações parecem estar intimamente envolvidas com o desenvolvimento de lipodistrofia, em conjunto com fatores genéticos e ambientais (Falutz, 2011).

Na ausência de protocolos específicos para manejo de dislipidemia em portadores do HIV, o Ministério da Saúde do Brasil, bem como outras entidades internacionais, têm recomendado a utilização dos mesmos critérios de manejo do NCEP – ATP III (*National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III*) e a estratificação de risco cardiovascular conforme o ERF (Brasil, 2013; Stein, 2012; Lundgren *et al.*, 2008). Esse escore é método robusto de estimativa de risco cardiovascular, construído através de estudo de base populacional e universalmente aceito (Stein, 2012). No entanto, ao ser empregado em pessoas infectadas pelo HIV não leva em consideração as características próprias da infecção, com interferência adicional pelo tempo de uso de TARV. (Law *et al.*, 2006).

Tem se observado que o risco de óbito por DCV é maior do que o risco por doenças definidoras de AIDS, em indivíduos com níveis satisfatórios de linfócitos CD4 (Friis-Møller *et al.*, 2003). Além disso, o uso de TARV parece aumentar a prevalência de fatores de risco cardiovascular (Hürlimann *et al.*, 2005). Mesmo assim, a diretriz atual para uso de TARV recomenda que seja iniciada, independente dos níveis de linfócitos CD4, para todos os pacientes com alto risco cardiovascular (ou seja, maior do que 20% a chance de óbito em 10 anos pelo ERF) (Brasil, 2013). A interpretação é que o benefício da preservação do sistema imune seja superior ao incremento de risco cardíaco (Brasil, 2013). Manejo de dislipidemia para reduzir risco de DAC em indivíduos infectados pelo HIV é o mesmo empregado na população em geral, uma vez que a pedra angular consiste no tratamento com estatinas e em intervenções no estilo de vida (Stein, 2012). Os valores de referência propostos para os lipídios séricos para adultos portadores do HIV estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de LDL-meta e indicação de terapia conforme recomendação NCEP

Risco DCV	Fatores de risco (FR) (-10 anos/risco)	LDL meta (mg/dL)	Valores limites para terapia (mg/dL)
Alto (muito alto)	DCV (>20%/10 anos)	< 100 (< 70)	≥100
Moderado alto	2+ FR (10-20%/10 anos)	< 130	≥130
Moderado	2+ FR (< 10%/10 anos)	<130	≥130
Baixo	0-1 fatores de risco	< 160	≥190

Adaptado de: *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (Stein, 2012).

3.2.2 HIV e disfunção endotelial

A disfunção endotelial pode contribuir para o aumento de DCV em indivíduos infectados pelo HIV (Mu *et al.*, 2007), tratando-se de evento inicial da aterogênese (Deanfield *et al.*, 2007; Masia *et al.*, 2007). Em indivíduos com DCV estabelecida ou apenas com fatores de risco, a disfunção endotelial tem valor preditivo para a progressão ou surgimento de novos eventos (Widlansky *et al.*, 2003). Entre outros fatores, níveis elevados de homocisteína foram associados com um aumento no risco para doenças vasculares ateroscleróticas, por induzir lesões no endotélio vascular (Eikelboom *et al.*, 1999; Wald *et al.*, 2002) independentemente dos fatores de risco tradicionais (Boushey *et al.*, 1995).

Indivíduos infectados pelo HIV, com ou sem TARV, apresentam maior prevalência de disfunção endotelial do que a população em geral (Solages *et al.*, 2006; Stein *et al.*, 2001). Disfunção endotelial atua precocemente na aterogênese, no comportamento dinâmico da placa e como preditor de eventos cardiovasculares futuros (Deanfield *et al.*, 2007; Yeboah *et al.*, 2007).

Apesar de propiciar melhor prognóstico e maior qualidade de vida, o advento de TARV pode contribuir para elevação do risco de DCV (Hürlimann *et al.*, 2005), diretamente relacionado com a prevalência de alterações metabólicas - dislipidemia, resistência periférica à insulina, síndrome metabólica (Hürlimann *et al.*, 2005). Estes efeitos podem contribuir para agravar a lesão ao endotélio vascular e com isso favorecer a aterogênese (de Larranaga *et al.*, 2003).

ECR, em portadores do HIV, mostrou que a redução homocisteína com suplementação de AF melhorou a função vascular em indivíduos com uso regular de TARV (Grigoletti *et al.*, 2013).

3.2.3 HCV e dislipidemia

O HCV possui uma relação peculiar com o metabolismo lipídico, porque a circulação de partículas virais ocorre em ligação com lipoproteínas séricas (Negro, 2010). Além disso, os lipídios são essenciais para o ciclo de vida do HCV. E, em última instância, porque alguns genótipos do vírus estão intimamente associados com acúmulo severo de TG no fígado, cursando com esteatohepatite (Negro, 2010). A ligação do HCV com as lipoproteínas tem um significado biológico bastante preciso, não somente por proporcionar a condição para a viremia e infectividade, mas porque o vírus se utiliza dos lipídios como mediadores de

processos para a efetivação da infecção, carreando as partículas virais da circulação para o interior dos hepatócitos através dos seus receptores de entrada e efluxo celular (Negro, 2010). As lipoproteínas participam intimamente do ciclo de vida do vírus em diferentes níveis, como cofatores para a replicação, como componentes da membrana especializada onde a replicação ocorre, ou mesmo como componente das partículas virais lipídicas, estruturas esféricas de tamanhos variando entre 50 e 150 nm contendo vírions infectantes e partículas lipídicas de baixa densidade altamente enriquecida com TG (Negro, 2010).

Os níveis séricos de CT, HDL, LDL e TG costumam ser mais baixos nos indivíduos portadores do HCV do que em controles soronegativos (Butt *et al.*, 2009). Várias hipóteses são postuladas para explicar estes achados e incluem a ligação do vírus com várias partículas de colesterol e triglicerídeos, montagem prejudicada das lipoproteínas nos hepatócitos e a entrada do vírus nos hepatócitos pelos receptores de LDL (Butt *et al.*, 2009).

3.3 ACIDO FOLICO E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL

O papel da disfunção endotelial sobre o desenvolvimento de aterogênese gerou a avaliação de várias estratégias farmacológicas e não farmacológicas (Brown e Hu, 2001). Entre as estratégias farmacológicas, incluem-se o uso de inibidores da enzima de conversão da angiotensina, que impedem a inativação de bradicinina, e bloqueadores dos canais de cálcio, que atuam reduzindo a contratilidade dos músculos cardíaco e liso (Cooke, 2000). As estatinas reduzem marcadores de inflamação, tais como a proteína C reativa, melhorando a vasomotricidade endotélio-dependente (Ridker *et al.*, 1998). A terapia de reposição hormonal, em mulheres, mostrou efeito sobre a função endotelial (Koh *et al.*, 1999), embora tenha sido associada com concentrações elevadas de proteína C reativa. Além disso, o aumento da prática de atividade física melhora a função endotelial em indivíduos com DAC (Hambrecht *et al.*, 2000). O papel de fatores nutricionais na modulação da função endotelial (Brown e Hu, 2001) gerou a investigação de ácidos graxos e vitaminas antioxidantes (Das, 2015), além do AF (Jacques *et al.*, 1999) no foco principal da investigação.

3.3.1 Acido fólico

O folato e AF são formas hidrossolúveis da vitamina B: o folato ocorre naturalmente nos alimentos enquanto o AF é a forma sintética desta vitamina sendo encontrado em

suplementos e alimentos fortificados (Krishnaswamy, 2001). A denominação folato tem origem do latim da palavra “folium” significado de folhas verdes, o que explica a riqueza dele em alimentos de origem vegetal (Borman, 1999). O folato é necessário na produção e manutenção de novas células, especialmente em períodos de divisão celular e crescimento acelerados tais como infância e gestação (Santos, 2013). Adultos e crianças necessitam de folatos para produção de glóbulos vermelhos e prevenção de anemia (Otten, 2006; Institute of Medicine, 1998). As fontes mais ricas são o fígado, os vegetais de folha verde escura, os feijões, o gérmen de trigo, a gema de ovo, o linho, o pão de trigo integral (Otten, 2006; Institute of Medicine, 1998). As recomendações de ingestão de folatos para adultos com mais de 19 anos são de um consumo diário de pelo menos 400 mcg (Krishnaswamy, 2001; Institute of Medicine (U.S.), 1998). O *National Health and Nutrition Examination Survey* (1988-91) e o *Continuing Survey of Foods Intakes by Individual* (1994-96) indicaram que a maioria dos adultos não consome adequadamente folatos (Alaimo et al, 1994; Raiten & Fischer, 1995).

O AF está envolvido em complexas vias e em um grande número de processos bioquímicos incluindo atuação como cofator para as enzimas implicadas nas reações de metilação (Crider, 2012). Os processos metabólicos dependentes de AF são influenciados pela ingestão dele e de outros nutrientes essenciais como vitaminas B12 e B6. (Borman, 1999; Crider, 2012). O AF endógeno circulante, sob a forma de 5-metiltetrahidrofolato, é transportado no plasma ligado inespecificamente a proteínas ligantes de baixa afinidade, principalmente a albumina, responsável por cerca de 50% de AF ligado (Bhargava, 2014). Nos tecidos, o transporte de AF ocorre por sistemas complexos através de carreadores de alta e baixa afinidade, que se ligam a receptores de AF reduzido e seus análogos inativos. Em humanos, o AF é excretado na urina e na bile, sob suas formas inativas e ativas, em torno de 100 µg por dia (Crider, 2012; Bhargava, 2014).

Estudos têm sido desenvolvidos sobre a relação AF/hiper-homocisteinemia no ciclo de remetilação da homocisteína para produzir metionina (aminoácido essencial) e também na via de síntese de DNA (Blom, 2011; Symons, 2006). A molécula central destas vias é o *tetrahidrofolato* dietético (THF). A primeira metilação do THF depende da *serina*; a partir daí, a uma enzima prepara o composto de AF para doar o grupamento metil (5-metil-THF) à homocisteína, gerando a metionina (Crider, 2012; Bhargava, 2014). Esta reação é dependente de vitamina B12. Esta via, chamada de remetilação, é um ciclo que regenera metionina - homocisteína - metionina (Crider, 2012). No caso de deficiência de AF todas as reações de metilação estarão comprometidas em graus variados, dependendo da afinidade da enzima à molécula respectiva de AF envolvida (Crider, 2012). Vários substratos e intermediários

metabólicos se acumulam com consequências negativas, como elevação da concentração de homocisteína plasmática, associada a significativo aumento do risco de várias doenças vasculares oclusivas, afetando tanto a estrutura da parede vascular quanto o sistema de anticoagulação sanguínea (Thambyrajah, 2001).

A Figura 1 ilustra o papel do AF no metabolismo e seus possíveis mecanismos para a proteção cardíaca.

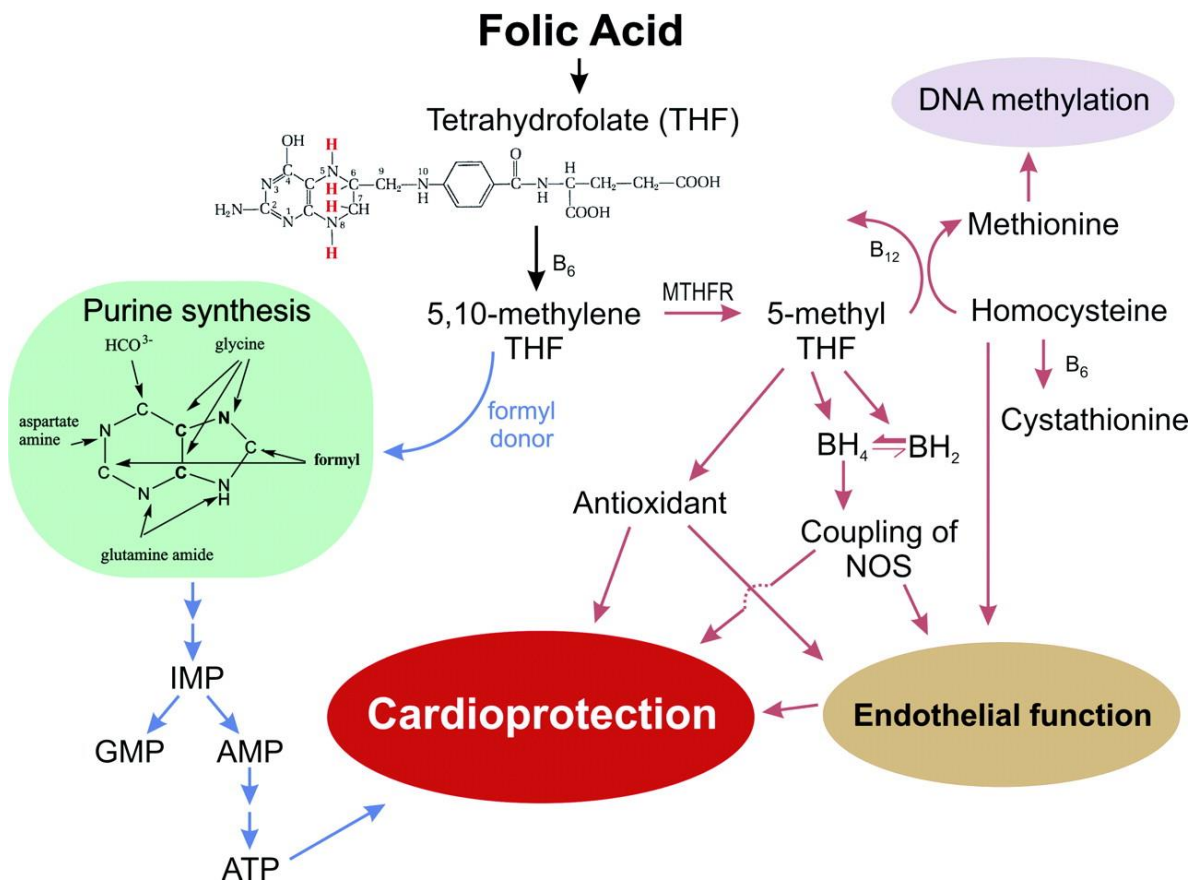


Figura 1. The role of folic acid in 1-carbon metabolism and its potential mechanisms for cardiac protection. The active metabolites of folic acid, 5,10-methylene tetrahydrofolate (THF) and 5-methyl THF serve as formyl donor and methyl donors for purine synthesis and methylation reactions, respectively. Besides converting homocysteine to methionine, 5-methyl THF improves vascular endothelial function by enhancing nitric oxide bioavailability and protects against oxidative injury. MTHFR indicates methyl tetrahydrofolate reductase; BH₄, tetrahydrobiopterin; NOS, nitric oxide synthase; B₆, vitamin B₆; and B₁₂, vitamin B₁₂ (Tian e Ingwall., 2008).

3.3.2 Acido fólico e homocisteína

Níveis elevados de homocisteína foram associados com aumento no risco para doenças vasculares ateroscleróticas, (Eikelboom *et al.*, 1999; Wald *et al.*, 2002),

independentemente de fatores de risco tradicionais (Boushey *et al.*, 1995). Hiperhomocisteinemia moderada (concentração plasmática >12 mol/L) acomete cerca de 10% da população geral e até 40 % dos portadores de doença vascular, estando associada com risco aumentado de doenças aterotrombóticas (Stanger *et al.*, 2004). Interações sinérgicas de homocisteína com outros fatores de risco (tabagismo, hipertensão arterial, diabetes mellitus, hiperlipidemia) produzem aumento do risco (Stanger *et al.*, 2004). Um dos autores sugere que a determinação de homocisteína no plasma deveria ser feita rotineiramente para avaliar o perfil de risco individual em doentes com DCV. Sugere ainda que a identificação de indivíduos em risco elevado de doença vascular seria de particular importância, pois esses seriam beneficiários de tratamento para reduzir os níveis séricos de homocisteína (Stanger *et al.*, 2004). A Tabela 2 ilustra as principais populações em risco de hiperhomocisteinemia, de acordo com as manifestações clínicas.

Tabela 2. Populações alvo para triagem de homocisteína sérica baseada no risco

Manifestação de doença vascular	Indivíduos com DCV	Indivíduos com deficiência nutricional
Doença arterial coronariana	Historia familiar (DCV)	Idosos (> 50 anos)
Infarto do miocárdio	Hipertensão arterial	Vegetarianos
Acidente vascular cerebral	Tabagismo	Doenças Inflamatórias Intestinais
Aterosclerose carotídea	Diabetes	Pré-eclâmpsia
Doença arterial oclusiva	Insuficiência renal	Doença renal
Embolia pulmonar arterial	Síndrome Metabólica	Abuso de álcool
Trombose venosa	Dislipidemia	Medicamentos

Adaptada de: Stanger *et al.*, 2004.

Ensaio clínico randomizado realizado na última década mostraram benefícios na redução de disfunção endotelial com a suplementação de AF e redução de homocisteína (Thambyrajah *et al.*, 2001; Mangoni *et al.*, 2002; Moat *et al.*, 2006; Yilmaz *et al.*, 2007), ou independente da redução de homocisteína (Doshi *et al.*, 2002; Anderson *et al.*, 2006; Title *et al.*, 2006; Moens *et al.*, 2007). Contudo, a hipótese de que a suplementação de AF melhore a função endotelial e diminua a concentração de homocisteína plasmática em indivíduos com DAC permaneceu controversa. Em duas metanálises avaliaram o tema de maneira ampla. Na primeira, os autores concluíram que a suplementação com AF, e a consequente redução de homocisteína, não cursou com redução consistente de risco cardiovascular (Miller, 2010; Yang, 2012), ao passo que na segunda metanálise a conclusão foi que a suplementação de AF melhorou significativamente a função endotelial e reduziu a concentração de

homocisteína plasmática em indivíduos com DAC (Yi, 2014). O detalhamento destes estudos será abordado mais adiante.

Em um estudo transversal realizado na Espanha, foram incluídos 145 participantes infectados pelo HIV (Roca *et al.*, 2012), cujo a média de nível sérico de homocisteína foi de $11,9 \pm 5,9$ $\mu\text{mol/L}$. Entre esses, 54 participantes (37%) apresentavam níveis séricos de homocisteína acima do limite superior da normalidade (5-15 $\mu\text{mol/L}$) (Roca *et al.*, 2012). Encontrou-se associação entre o nível sérico elevado de homocisteína e história familiar de doença coronariana precoce ($P = 0,027$), comportamento sexual de risco para HIV ($P = 0,016$), coinfeção HIV-HCV ($P = 0,002$), menor nível sérico de AF ($P < 0,001$) e de vitamina B12 ($P = <0,001$) (Roca *et al.*, 2012).

Em um estudo de casos e controles realizado na Nigéria, foram avaliados 200 participantes, entre os quais 100 casos infectados pelo HIV, virgens de TARV, e 100 controles soronegativos. A concentração de AF, no plasma, foi significativamente menor entre os casos (5,04 mg/l) do que no grupo controle (15,89 mg/l) ($P = 0,0002$) (Alani *et al.*, 2010). Em outro estudo, com desenho transversal, realizado em hospital terciário no sul do Brasil, encontrou deficiência de AF em mais de 40% dos indivíduos infectados pelo HIV (Castro & Goldani, 2009).

Grigoletti e colaboradores conduziram um ECR, controlado por placebo, em 30 portadores do HIV, comparando os efeitos de quatro semanas de ingestão diária de 5 mg de AF ($n=15$) ou placebo ($n=15$) sobre a FMD. Os participantes faziam uso de TARV por pelo menos seis meses, com carga viral indetectável e contagem de células CD4 > 200 células/ mm^3 . A função vascular foi avaliada com pletismografia de oclusão venosa na linha de base e quatro semanas após, para a determinação da FMD na artéria braquial. A suplementação de AF melhorou significativamente a FMD, elevando de 14,9 para 21,2 ml/min/100 ml o nível sérico, mas o mesmo não foi observado no grupo placebo, para o qual a variação foi de 15,3 para 14,6 ml/min/100 ml ($P < 0,001$ de interação tempo:grupo). Durante o ECR, o regime de TARV não foi alterado. Nesse ECR, a suplementação com AF, pelo período de quatro semanas, melhorou a reatividade vascular em indivíduos infectados pelo HIV (Grigoletti *et al.*, 2013). Contudo, o ECR não avaliou a coinfeção HIV-HCV.

Além do efeito do AF na via de metilação da homocisteína, ele atua sobre a disfunção endotelial por outros mecanismos não relacionados à homocisteinemia (Stroes *et al.*, 2000). Na presença de quantidades suficientes de cofatores, o AF se liga ao óxido nítrico endotelial sintase (eNOS) resultando na produção de óxido nítrico, a partir da L-arginina e oxigênio. Posteriormente, o óxido nítrico se difunde das células endoteliais para as células musculares

lisas ativando guanosina monofosfato cíclico, o que leva ao relaxamento vascular. A biodisponibilidade diminuída de cofatores leva ao desacoplamento da eNOS com subsequente redução da formação de óxido nítrico e aumento na geração de espécies reativas de oxigênio, o que leva a disfunção endotelial (Stroes *et al.*, 2000). Assim, o AF poderia apresentar efeito antitrombótico, independente do efeito de redução da homocisteína (Mangoni *et al.*, 2003).

A Figura 2 apresenta os mecanismos de ação do AF sobre a disfunção endotelial.

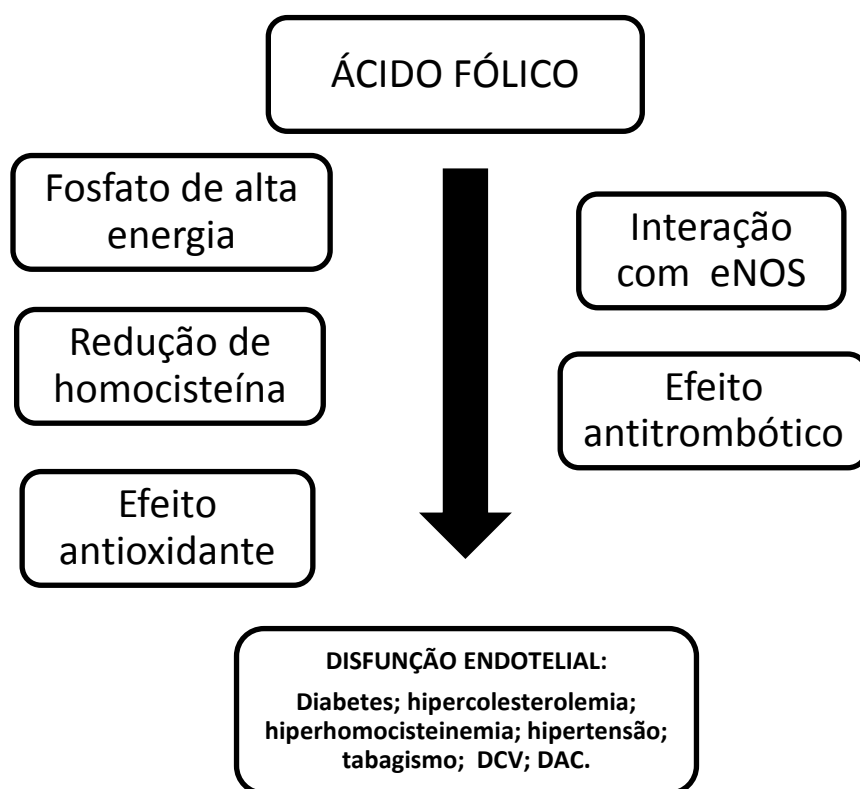


Figura 2. Mecanismos de ação do ácido fólico (Adaptado de: Moens *et al.*, 2008).

3.3.3 Suplementação de ácido fólico e efeitos na disfunção endotelial

Em três metanálises de ECR sobre os efeitos da suplementação por AF sobre risco cardiovascular (Miller *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2012; Yi *et al.*, 2014) os resultados serão apresentados a seguir.

Miller e colaboradores publicaram uma metanálise avaliando o impacto da suplementação de AF sobre DCV, DAC, acidente vascular encefálico, e sua interação com os

níveis séricos de homocisteína. A estratégia de busca abrangeu o período compreendido entre janeiro de 1966 a julho de 2006, sem restrição de idioma. Os critérios de inclusão foram: (1) ECR; (2) intervenção com suplementação de AF; (3) grupos de intervenção e controle relatando o número de eventos para DCV, DAC, acidente vascular encefálico, ou mortalidade por qualquer causa; e (4) intervenção com duração de pelo menos seis meses. Foram excluídas: mulheres grávidas, crianças e os indivíduos com doença renal em estágio final. Foram analisados 14 ECRs, a maioria deles realizados na Europa e nos Estados Unidos. O número total de participantes randomizados nos quatorze ensaios foi 38.941, com ensaios individuais que variaram de 240 a 12.064 participantes. As doses de AF variaram entre de 0,5 a 5 mg/dia. Três estudos utilizaram suplemento isolado de AF, e os demais onze estudos utilizaram AF em combinação com vitamina B12 e/ou B6. Dois ECR foram realizados em países com programas de fortificação mandatória de AF (Estados Unidos e Canadá), e outros dois estudos em países sem fortificação. O seguimento durou entre seis e 84 meses. Os resultados da metanálise mostram que a suplementação com AF não teve nenhum efeito global sobre DCV, mortalidade, ou acidente vascular encefálico. Análises adicionais mostraram maior risco de eventos cardiovasculares com a suplementação de AF, em participantes que tinham altos níveis de homocisteína no início do estudo. Uma possível explicação para os efeitos nulos da suplementação sobre os desfechos, é que vários ECR foram conduzidos em países com programas de fortificação de AF nos alimentos consumidos pela população. A magnitude da redução da homocisteína plasmática é dependente da concentração de homocisteína na linha de base e das concentrações de AF pré-tratamento. No entanto, apenas quatro de quatorze ECR foram conduzidos em países com fortificação. Análises estratificadas de subgrupos por status de fortificação não demonstraram diferenças significativas nos valores de homocisteína ($P=0,83$), nem para risco de eventos cardiovasculares ($P=0,17$), entre países com ou sem fortificação de AF. Sendo assim, concluiu-se que a suplementação com AF não deve ser recomendado como um meio de prevenir DCV ou acidente vascular encefálico (Miller *et al.*, 2010).

Yang e colaboradores (Yang *et al.*, 2012) através de uma busca estruturada no PUBMED, EMBASE e Cochrane, identificaram 26 ECRs, entre os quais constavam os quatorze ECRs avaliados por Miller, em 2010. A estratégia de busca utilizada abrangeu o período compreendido entre 1966 e 2012, sem restrição de idioma. Os critérios de inclusão foram: (1) ECR; (2) intervenção com suplementação de AF com ou sem adição de vitamina B; (3) relato de pelo menos um evento entre: DCV, DAC, acidente vascular encefálico; e (4) intervenção com duração de pelo menos seis meses; (5) qualquer idade e ambos os sexos. Na

análise, foram incluídos 58.804 indivíduos, com 30.323 (52%) participantes no grupo intervenção e 28.481 (48%) no grupo controle. A conclusão foi que a suplementação com AF não foi associada com mudança significativa no risco de DCV (RR: 0,98; 0,95-1,02; P=0,36), DAC (RR: 1,03; 0,98-1,08; P=0,23), e mortalidade por todas as causas (RR: 1,00; 0,96-1,04; P=0,92). Contudo, a metanálise identificou tendência para a diminuição do risco de acidente vascular encefálico (RR: 0,93; 0,86-1,00; P=0,05). Na análise estratificada, a única heterogeneidade significativa encontrada foi redução do risco de acidente vascular encefálico no grupo com fortificação (RR: 1,07; 0,92-1,25) versus o grupo sem tal medida (RR: 0,88; 0,81-0,96) (P para heterogeneidade = 0,03). Os autores concluíram que poderia haver um benefício modesto da suplementação de AF na prevenção de acidente vascular encefálico (Yang *et al.*, 2012).

Em 2014 foi publicada outra metanálise, com número de estudos menor em comparação com as anteriormente citadas (Yi *et al.*, 2014). A estratégia de busca foi realizada no PUBMED, no período entre 1966 e 2012, utilizando os termos ácido fólico ou folato, totalizando mais de 40 mil estudos. Em seguida foram utilizados limites (disfunção endotelial e homocisteína) limitando a 475 estudos; com a inserção de DAC ou DCV, o número de artigos foi limitado a 104 estudos, entre os quais 23 ECRs. Oito estudos mencionavam AF ou folato em seu título ou resumo, porém dois estudos foram excluídos por dados inapropriados. Os critérios de inclusão foram: (1) ECR; (2) intervenção com suplementação de AF; (3) indivíduos com DAC estabelecida; e (4) intervenção com duração de quatro a dezesseis semanas; (5) homocisteína dosada; (6) informação sobre FMD. Na análise, foram incluídos 377 indivíduos, com 191 (51%) participantes no grupo de intervenção e 186 (49%) no grupo controle. Os autores concluíram que a suplementação de AF, por pelo menos quatro semanas, reduziu os níveis de homocisteína, e cursou com melhora da FMD em indivíduos com DAC. Contudo, a metanálise incluiu apenas seis ECRs e na discussão do artigo, os autores apontaram vieses na condução desses ECRs, o que pode limitar a validade interna do estudo (Yi *et al.*, 2014).

Por fim, em função de controversia no benefício da suplementação de AF sobre a função endotelial, uma avaliação crítica sugeriu que os resultados controversos podem decorrer da procedência do estudo ser de países com ou sem programas de fortificação alimentar com AF. A fortificação elevaria o nível populacional de folato e a suplementação com AF tenderia a positividade em regiões com baixo folato e o resultado seria nulo em regiões de altos níveis de folato (Rimm & Stampfer, 2011). Além disso, os autores reforçaram

limitações inerentes de uma metanálise, que podem gerar interpretações equivocadas baseadas em ECRs com limitações metodológicas. Os autores concluíram que por mais que centenas de estudos tenham investigado a associação entre homocisteína e DCV durante as últimas décadas e que os resultados de ECR e estudos observacionais sejam discrepantes, o tema não está totalmente elucidado (Rimm & Stampfer, 2011).

4 - JUSTIFICATIVA

Indivíduos infectados pelo HIV ou HIV-HCV têm apresentado maior sobrevida, porém com aumento da morbidade e mortalidade associada à DCV. A disfunção endotelial é um marcador precoce de aterogênese, podendo ser alvo de terapia preventiva. A administração de AF tem demonstrado algum benefício em indivíduos com risco para DCV, especialmente aqueles com hiperhomocisteinemia.

Até o presente, poucos estudos ofereceram informações consistentes sobre intervenções farmacológicas que minimizem disfunção endotelial, em indivíduos infectados pelo HIV ou HIV-HCV. E a administração de AF mostrou efeito benéfico sobre a disfunção endotelial em infectados pelo HIV, mas indivíduos coinfectados não foram avaliados. Portanto, o presente estudo buscou confirmar se a terapia de suplementação com AF está associada com redução de homocisteína e disfunção endotelial, e avaliar se esses efeitos estão presentes em indivíduos coinfectados por HIV-HCV.

5 - OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL

- Determinar o efeito da suplementação de AF por quatro semanas na função endotelial de indivíduos infectados pelo HIV ou HIV-HCV.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar os efeitos da suplementação com AF sobre a variação de resposta vascular, através da avaliação da FMD da artéria braquial durante hiperemia reativa, estratificada de acordo com status de infecção (HIV ou HIV-HCV);
- Verificar os efeitos da suplementação com AF sobre os níveis de homocisteína sérica, durante o seguimento dos participantes, de acordo com seu status de infecção (HIV ou HIV-HCV);
- Verificar os efeitos da suplementação com AF sobre os níveis de vitamina B12 sérica, durante o seguimento dos participantes, de acordo com seu status de infecção (HIV ou HIV-HCV);
- Verificar os efeitos da suplementação com AF sobre os níveis de pressão arterial sistólica e diastólica, durante o seguimento dos participantes, de acordo com seu status de infecção (HIV ou HIV-HCV).

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DE LITERATURA

1. Survival after introduction of HAART in people with known duration of HIV-1 infection. The CASCADE Collaboration. Concerted Action on SeroConversion to AIDS and Death in Europe. *Lancet*. 2000;355(9210):1158-9. Epub 2000/05/03.
2. Adinolfi LE, Zampino R, Restivo L, Lonardo A, Guerrera B, Marrone A, et al. Chronic hepatitis C virus infection and atherosclerosis: clinical impact and mechanisms. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2014;20(13):3410-7. Epub 2014/04/08.
3. Alaimo K, McDowell MA, Briefel RR, Bischof AM, Caughman CR, Loria CM, et al. Dietary intake of vitamins, minerals, and fiber of persons ages 2 months and over in the United States: Third National Health and Nutrition Examination Survey, Phase 1, 1988-91. *Advance data*. 1994(258):1-28. Epub 1994/10/18.
4. Alani A, Vincent O, Adewumi A, Titilope A, Onogu E, Ralph A, et al. Plasma folate studies in HIV-positive patients at the Lagos university teaching hospital, Nigeria. *Indian journal of sexually transmitted diseases*. 2010;31(2):99-103. Epub 2011/07/01.
5. Alencastro PR, Fuchs SC, Wolff FH, Ikeda ML, Brandao AB, Barcellos NT. Independent predictors of metabolic syndrome in HIV-infected patients. *AIDS patient care and STDs*. 2011;25(11):627-34. Epub 2011/09/23.
6. Alencastro PR, Wolff FH, Oliveira RR, Ikeda ML, Barcellos NT, Brandao AB, et al. Metabolic syndrome and population attributable risk among HIV/AIDS patients: comparison between NCEP-ATPIII, IDF and AHA/NHLBI definitions. *AIDS research and therapy*. 2012;9(1):29. Epub 2012/10/06.
7. Anderson TJ, Sun YH, Hubacek J, Hyndman ME, Verma S, Shewchuk L, et al. Effects of folinic acid on forearm blood flow in patients with end-stage renal disease. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2006;21(7):1927-33. Epub 2006/03/08.
8. Bhargava S, Tyagi SC. Nutriepigenetic regulation by folate-homocysteine-methionine axis: a review. *Molecular and cellular biochemistry*. 2014;387(1-2):55-61. Epub 2013/11/12.
9. Blom HJ, Smulders Y. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *Journal of inherited metabolic disease*. 2011;34(1):75-81. Epub 2010/09/04.
10. Borman B. Folate, folic acid, and health. Wellington, N.Z.: Ministry of Health,; 1999. Available from: <http://www.health.govt.nz/publication/folate-folic-acid-and-health>.
11. Bostom AG, Cupples LA, Jenner JL, Ordovas JM, Seman LJ, Wilson PW, et al. Elevated plasma lipoprotein(a) and coronary heart disease in men aged 55 years and younger. A prospective study. *Jama*. 1996;276(7):544-8. Epub 1996/08/21.
12. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *Jama*. 1995;274(13):1049-57. Epub 1995/10/04.

13. Brasil. Boletim Epidemiológico de DST/AIDS. In: Ministério da Saúde - Departamento de DST/AIDS e Hepatites virais. Brasília - DF, 2012.
14. Brasil. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para adultos vivendo com HIV/AIDS. In: Ministério da Saúde - Departamento de DST/AIDS e Hepatites virais. Brasília - DF, 2013.
15. Brasil. Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais. In: Ministério da Saúde - Departamento de DST/AIDS e Hepatites virais. Brasília - DF, 2011.
16. Brau N. Chronic hepatitis C in patients with HIV/AIDS: a new challenge in antiviral therapy. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2005;56(6):991-5. Epub 2005/11/26.
17. Brown AA, Hu FB. Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease. *The American journal of clinical nutrition*. 2001;73(4):673-86. Epub 2001/03/29.
18. Butt AA, Xiaoqiang W, Budoff M, Leaf D, Kuller LH, Justice AC. Hepatitis C virus infection and the risk of coronary disease. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2009;49(2):225-32. Epub 2009/06/11.
19. Carr A, Miller J, Law M, Cooper DA. A syndrome of lipoatrophy, lactic acidemia and liver dysfunction associated with HIV nucleoside analogue therapy: contribution to protease inhibitor-related lipodystrophy syndrome. *AIDS*. 2000;14(3):F25-32. Epub 2000/03/15.
20. Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PW, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. *The Framingham Study*. *Jama*. 1986;256(20):2835-8. Epub 1986/11/28.
21. Castro L, Goldani LZ. Iron, folate and vitamin B12 parameters in HIV-1 infected patients with anaemia in southern Brazil. *Tropical doctor*. 2009;39(2):83-5. Epub 2009/03/21.
22. Cooke JP. The endothelium: a new target for therapy. *Vasc Med*. 2000;5(1):49-53. Epub 2000/03/29.
23. Crider KS, Yang TP, Berry RJ, Bailey LB. Folate and DNA methylation: a review of molecular mechanisms and the evidence for folate's role. *Adv Nutr*. 2012;3(1):21-38. Epub 2012/02/15.
24. Das UN. Nutritional factors in the prevention and management of coronary artery disease and heart failure. *Nutrition*. 2015;31(2):283-91. Epub 2015/01/17.
25. de Larranaga GF, Petroni A, Deluchi G, Alonso BS, Benetucci JA. Viral load and disease progression as responsible for endothelial activation and/or injury in human immunodeficiency virus-1-infected patients. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis*. 2003;14(1):15-8. Epub 2003/01/25.
26. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007;115(10):1285-95. Epub 2007/03/14.

27. Doshi SN, McDowell IF, Moat SJ, Payne N, Durrant HJ, Lewis MJ, et al. Folic acid improves endothelial function in coronary artery disease via mechanisms largely independent of homocysteine lowering. *Circulation*. 2002;105(1):22-6. Epub 2002/01/05.
28. Eikelboom JW, Lonn E, Genest J, Jr., Hankey G, Yusuf S. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Annals of internal medicine*. 1999;131(5):363-75. Epub 1999/09/04.
29. Emery S, Neuhaus JA, Phillips AN, Babiker A, Cohen CJ, Gatell JM, et al. Major clinical outcomes in antiretroviral therapy (ART)-naive participants and in those not receiving ART at baseline in the SMART study. *The Journal of infectious diseases*. 2008;197(8):1133-44. Epub 2008/05/14.
30. Eslam M, Lopez-Cortes LF, Romero-Gomez M. The role of insulin resistance in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *Current opinion in HIV and AIDS*. 2011;6(6):553-8. Epub 2011/09/22.
31. Falutz J. HIV infection, body composition changes and related metabolic complications: contributing factors and evolving management strategies. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2011;14(3):255-60. Epub 2011/04/05.
32. Friis-Moller N, Sabin CA, Weber R, d'Arminio Monforte A, El-Sadr WM, Reiss P, et al. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *The New England journal of medicine*. 2003;349(21):1993-2003. Epub 2003/11/25.
33. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation*. 1989;79(1):8-15. Epub 1989/01/01.
34. Grigoletti SS, Guindani G, Moraes RS, Ribeiro JP, Sprinz E. Short-term folinic acid supplementation improves vascular reactivity in HIV-infected individuals: a randomized trial. *Nutrition*. 2013;29(6):886-91. Epub 2013/05/11.
35. Hagedorn CH, Rice CM. *The hepatitis C viruses*. Berlin ; New York: Springer; 2000. viii, 381 p. p.
36. Hambrecht R, Wolf A, Gielen S, Linke A, Hofer J, Erbs S, et al. Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *The New England journal of medicine*. 2000;342(7):454-60. Epub 2000/02/17.
37. Heath KV, Hogg RS, Chan KJ, Harris M, Montessori V, O'Shaughnessy MV, et al. Lipodystrophy-associated morphological, cholesterol and triglyceride abnormalities in a population-based HIV/AIDS treatment database. *AIDS*. 2001;15(2):231-9. Epub 2001/02/24.
38. Hurlimann D, Weber R, Enseleit F, Luscher TF. [HIV infection, antiretroviral therapy, and endothelium]. *Herz*. 2005;30(6):472-80. Epub 2005/09/20. HIV-Infektion, antiretrovirale therapie und endothel.

39. Institute of Medicine (U.S.). Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes., Institute of Medicine (U.S.). Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds. Dietary reference intakes. Proposed definition and plan for review of dietary antioxidants and related compounds : a report of the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and Its Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Washington, D.C.: National Academy Press; 1998. ix, 13 p. p.
40. Ishizaka Y, Ishizaka N, Takahashi E, Unuma T, Tooda E, Hashimoto H, et al. Association between hepatitis C virus core protein and carotid atherosclerosis. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2003;67(1):26-30. Epub 2003/01/10.
41. Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PW, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *The New England journal of medicine*. 1999;340(19):1449-54. Epub 1999/05/13.
42. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Global report : UNAIDS report on the global AIDS epidemic. Geneva, Switzerland: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS.
43. Koh KK, Cardillo C, Bui MN, Hathaway L, Csako G, Waclawiw MA, et al. Vascular effects of estrogen and cholesterol-lowering therapies in hypercholesterolemic postmenopausal women. *Circulation*. 1999;99(3):354-60. Epub 1999/01/26.
44. Krishnaswamy K, Madhavan Nair K. Importance of folate in human nutrition. *The British journal of nutrition*. 2001;85 Suppl 2:S115-24. Epub 2001/08/18.
45. Law MG, Friis-Moller N, El-Sadr WM, Weber R, Reiss P, D'Arminio Monforte A, et al. The use of the Framingham equation to predict myocardial infarctions in HIV-infected patients: comparison with observed events in the D:A:D Study. *HIV medicine*. 2006;7(4):218-30. Epub 2006/04/25.
46. Lundgren JD, Babiker A, El-Sadr W, Emery S, Grund B, Neaton JD, et al. Inferior clinical outcome of the CD4+ cell count-guided antiretroviral treatment interruption strategy in the SMART study: role of CD4+ Cell counts and HIV RNA levels during follow-up. *The Journal of infectious diseases*. 2008;197(8):1145-55. Epub 2008/05/14.
47. Mangoni AA, Arya R, Ford E, Asonganyi B, Sherwood RA, Ouldred E, et al. Effects of folic acid supplementation on inflammatory and thrombotic markers in chronic smokers. A randomised controlled trial. *Thrombosis research*. 2003;110(1):13-7. Epub 2003/07/25.
48. Mangoni AA, Sherwood RA, Swift CG, Jackson SH. Folic acid enhances endothelial function and reduces blood pressure in smokers: a randomized controlled trial. *Journal of internal medicine*. 2002;252(6):497-503. Epub 2002/12/11.
49. Masia M, Padilla S, Bernal E, Almenar MV, Molina J, Hernandez I, et al. Influence of antiretroviral therapy on oxidative stress and cardiovascular risk: a prospective cross-sectional study in HIV-infected patients. *Clinical therapeutics*. 2007;29(7):1448-55. Epub 2007/09/11.

50. Miller ER, 3rd, Juraschek S, Pastor-Barriuso R, Bazzano LA, Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis of folic acid supplementation trials on risk of cardiovascular disease and risk interaction with baseline homocysteine levels. *The American journal of cardiology*. 2010;106(4):517-27. Epub 2010/08/10.
51. Moat SJ, Madhavan A, Taylor SY, Payne N, Allen RH, Stabler SP, et al. High- but not low-dose folic acid improves endothelial function in coronary artery disease. *European journal of clinical investigation*. 2006;36(12):850-9. Epub 2006/11/08.
52. Moens AL, Claeys MJ, Wuyts FL, Goovaerts I, Van Hertbruggen E, Wendelen LC, et al. Effect of folic acid on endothelial function following acute myocardial infarction. *The American journal of cardiology*. 2007;99(4):476-81. Epub 2007/02/13.
53. Moens AL, Vrints CJ, Claeys MJ, Timmermans JP, Champion HC, Kass DA. Mechanisms and potential therapeutic targets for folic acid in cardiovascular disease. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2008;294(5):H1971-7. Epub 2008/04/01.
54. Montaner JS, Lima VD, Harrigan PR, Lourenco L, Yip B, Nosyk B, et al. Expansion of HAART coverage is associated with sustained decreases in HIV/AIDS morbidity, mortality and HIV transmission: the "HIV Treatment as Prevention" experience in a Canadian setting. *PloS one*. 2014;9(2):e87872. Epub 2014/02/18.
55. Moore RD, Keruly JC, Gebo KA, Lucas GM. An improvement in virologic response to highly active antiretroviral therapy in clinical practice from 1996 through 2002. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005;39(2):195-8. Epub 2005/05/21.
56. Mu H, Chai H, Lin PH, Yao Q, Chen C. Current update on HIV-associated vascular disease and endothelial dysfunction. *World journal of surgery*. 2007;31(4):632-43. Epub 2007/03/21.
57. Negro F. Abnormalities of lipid metabolism in hepatitis C virus infection. *Gut*. 2010;59(9):1279-87. Epub 2010/07/28.
58. Nix LM, Tien PC. Metabolic syndrome, diabetes, and cardiovascular risk in HIV. *Current HIV/AIDS reports*. 2014;11(3):271-8. Epub 2014/07/17.
59. Organization WH. Hepatitis C Updated April 2014 [Fact sheet N°164]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>.
60. Otten JJ, Hellwig JP, Meyers LD. DRI, dietary reference intakes : the essential guide to nutrient requirements. Washington, D.C.: National Academies Press; 2006. xiii, 543 p. p.
61. Paraboni ML, Sbeghen MD, Wolff FH, Moreira LB. Risk factors for infection with different hepatitis C virus genotypes in southern Brazil. *TheScientificWorldJournal*. 2012;2012:946954. Epub 2012/06/06.
62. Phillips AN, Carr A, Neuhaus J, Visnegarwala F, Prineas R, Burman WJ, et al. Interruption of antiretroviral therapy and risk of cardiovascular disease in persons with HIV-1

- infection: exploratory analyses from the SMART trial. *Antiviral therapy*. 2008;13(2):177-87. Epub 2008/05/29.
63. Raiten DJ, Fisher KD. Assessment of folate methodology used in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III, 1988-1994). *The Journal of nutrition*. 1995;125(5):1371S-98S. Epub 1995/05/01.
64. Ridker PM, Hennekens CH, Rifai N, Buring JE, Manson JE. Hormone replacement therapy and increased plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation*. 1999;100(7):713-6. Epub 1999/08/18.
65. Rimm EB, Stampfer MJ. Folate and cardiovascular disease: one size does not fit all. *Lancet*. 2011;378(9791):544-6. Epub 2011/08/02.
66. Roca B, Bennasar M, Ferrero JA, del Monte MC, Resino E. Hepatitis C virus co-infection and sexual risk behaviour are associated with a high homocysteine serum level in HIV-infected patients. *Swiss medical weekly*. 2012;141:w13323. Epub 2012/01/19.
67. Santos Q, Sichieri R, Marchioni DM, Verly E, Jr. [Evaluation of the safety of different doses of folic acid supplements in women in Brazil]. *Revista de saude publica*. 2013;47(5):952-7. Epub 2014/03/15. Avaliacao da seguranca de diferentes doses de suplementos de acido folico em mulheres do Brasil.
68. Sekhar RV. Treatment of Dyslipidemia in HIV. *Current atherosclerosis reports*. 2015;17(4):493. Epub 2015/02/24.
69. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *The Lancet Infectious diseases*. 2005;5(9):558-67. Epub 2005/08/27.
70. Solages A, Vita JA, Thornton DJ, Murray J, Heeren T, Craven DE, et al. Endothelial function in HIV-infected persons. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2006;42(9):1325-32. Epub 2006/04/06.
71. Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K, Fowler B, Geisel J, Dierkes J, et al. Clinical use and rational management of homocysteine, folic acid, and B vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases. *Zeitschrift fur Kardiologie*. 2004;93(6):439-53. Epub 2004/07/15.
72. Stein JH. Cardiovascular risk and dyslipidemia management in HIV-infected patients. *Topics in antiviral medicine*. 2012;20(4):129-33; quiz 3-4. Epub 2012/11/17.
73. Stein JH, Klein MA, Bellehumeur JL, McBride PE, Wiebe DA, Otvos JD, et al. Use of human immunodeficiency virus-1 protease inhibitors is associated with atherogenic lipoprotein changes and endothelial dysfunction. *Circulation*. 2001;104(3):257-62. Epub 2001/07/18.
74. Sterne JA, Hernan MA, Ledergerber B, Tilling K, Weber R, Sendi P, et al. Long-term effectiveness of potent antiretroviral therapy in preventing AIDS and death: a prospective cohort study. *Lancet*. 2005;366(9483):378-84. Epub 2005/08/02.

75. Stroes ES, van Faassen EE, Yo M, Martasek P, Boer P, Govers R, et al. Folic acid reverts dysfunction of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation research*. 2000;86(11):1129-34. Epub 2000/06/13.
76. Thambyrajah J, Landray MJ, Jones HJ, McGlynn FJ, Wheeler DC, Townend JN. A randomized double-blind placebo-controlled trial of the effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid on endothelial function in patients with coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001;37(7):1858-63. Epub 2001/06/13.
77. Thompson MA, Aberg JA, Cahn P, Montaner JS, Rizzardini G, Telenti A, et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2010 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *Jama*. 2010;304(3):321-33. Epub 2010/07/20.
78. Tian R, Ingwall JS. How does folic acid cure heart attacks? *Circulation*. 2008;117(14):1772-4. Epub 2008/04/09.
79. Title LM, Ur E, Giddens K, McQueen MJ, Nassar BA. Folic acid improves endothelial dysfunction in type 2 diabetes--an effect independent of homocysteine-lowering. *Vasc Med*. 2006;11(2):101-9. Epub 2006/08/05.
80. Torriani FJ, Komarow L, Parker RA, Cotter BR, Currier JS, Dube MP, et al. Endothelial function in human immunodeficiency virus-infected antiretroviral-naive subjects before and after starting potent antiretroviral therapy: The ACTG (AIDS Clinical Trials Group) Study 5152s. *Journal of the American College of Cardiology*. 2008;52(7):569-76. Epub 2008/08/09.
81. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ*. 2002;325(7374):1202. Epub 2002/11/26.
82. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Jr., Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003;42(7):1149-60. Epub 2003/10/03.
83. Wolff FH, Fuchs SC, Barcellos NN, de Alencastro PR, Ikeda ML, Brandao AB, et al. Co-infection by hepatitis C virus in HIV-infected patients in southern Brazil: genotype distribution and clinical correlates. *PloS one*. 2010;5(5):e10494. Epub 2010/05/14.
84. Yang HT, Lee M, Hong KS, Ovbiagele B, Saver JL. Efficacy of folic acid supplementation in cardiovascular disease prevention: an updated meta-analysis of randomized controlled trials. *European journal of internal medicine*. 2012;23(8):745-54. Epub 2012/08/14.
85. Yeboah J, Crouse JR, Hsu FC, Burke GL, Herrington DM. Brachial flow-mediated dilation predicts incident cardiovascular events in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 2007;115(18):2390-7. Epub 2007/04/25.
86. Yi X, Zhou Y, Jiang D, Li X, Guo Y, Jiang X. Efficacy of folic acid supplementation on endothelial function and plasma homocysteine concentration in coronary artery disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Experimental and therapeutic medicine*. 2014;7(5):1100-10. Epub 2014/06/19.

87. Yilmaz H, Sahin S, Sayar N, Tangurek B, Yilmaz M, Nurkalem Z, et al. Effects of folic acid and N-acetylcysteine on plasma homocysteine levels and endothelial function in patients with coronary artery disease. *Acta cardiologica*. 2007;62(6):579-85. Epub 2008/01/25.

7. ARTIGOS

7.1 ARTIGO 1

TÍTULO: Eficácia do ácido folínico sobre níveis de homocisteína e dilatação mediada pelo fluxo em indivíduos infectados pelo HIV e coinfectados por HCV: Ensaio clínico randomizado controlado por placebo.

TÍTULO EM INGLÊS: Efficacy of folic acid on homocysteine levels and Flow-mediated Dilatation in individuals HIV-infected and HCV coinfecting: randomized clinical trial, placebo-controlled.

Fábio L. Pedro, M.D.,^{a,b} Sandra C. Fuchs, Ph.D, M.D.,^a Alexandre A. Naujorks, Ph.D, M.D.,^a Querino H. da Silva,^a Shana S. Grigoletti,

^a Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

^b Serviço de Doenças Infecciosas, Hospital Universitário de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Endereço para correspondência:

Prof^a Dra Sandra Costa Fuchs

Centro de Pesquisa Clínica, 5º andar - Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Ramiro Barcellos 2350, 2º andar, CEP: 90035-003, Porto Alegre – RS, Brasil. E-mail: scfuchs@terra.com.br; Telefone: +55 55 33596362

Formatado para ser enviado à *Atherosclerosis Journal*.

RESUMO:

Contexto: A suplementação de ácido fólico (AF) melhora a função endotelial de indivíduos infectados pelo HIV em uso contínuo de terapia antirretroviral (TARV). A literatura não demonstra com clareza esse benefício em indivíduos coinfectados HIV-HCV.

Introdução: Indivíduos infectados pelo HIV ou HIV-HCV apresentam um conjunto de condições que podem levar a disfunção endotelial. Estudos demonstram que a administração de AF possui efeitos benéficos sobre a função endotelial de diferentes populações com risco cardiovascular, inclusive em mono infectados pelo HIV.

Objetivo: Determinar o efeito da suplementação de AF por quatro semanas sobre a dilatação mediada pelo fluxo (FMD) na artéria braquial em indivíduos infectados pelo HIV ou HIV-HCV em uso contínuo de TARV.

Delineamento: Ensaio clínico randomizado (ECR), e controlado por placebo.

Local: Ambulatório de doenças infecciosas do Hospital Universitário de Santa Maria, Santa Maria, sul do Brasil.

População: Foram avaliados 69 indivíduos com idade entre 18-50 anos, de ambos os sexos, com infecção pelo HIV ou coinfectados pelo HCV, em TARV e com carga viral indetectável há mais de seis meses. Excluíram-se participantes com Diabetes Mellitus, infarto agudo do miocárdio, revascularização miocárdica, ou acidente vascular encefálico prévios, com creatinina >1,5 mg/dL, diagnóstico clínico, ecográfico, endoscópico ou laboratorial de cirrose hepática, em uso de estatinas, fibratos, terapia de reposição hormonal, sulfonamidas, suplementos vitamínicos, ou AF nos últimos 30 dias. Adicionalmente foram excluídas mulheres grávidas, e participantes de outro ECR.

Intervenção: Indivíduos alocados para o grupo intervenção receberam AF, cinco mg (5 mg), via oral, em dose única diária, pela manhã, durante quatro semanas. Os participantes alocados para grupo placebo receberam orientação para seguir a mesma posologia, sendo os comprimidos indistinguíveis em cor, aroma, sabor, forma e tamanho.

Desfechos: Utilizaram-se as variações nos níveis de homocisteína, vitamina B12 e na FMD na artéria braquial, aferida por Doppler, obtidos na randomização e ao final do seguimento.

Resultados: Realizou-se o rastreamento de 239 participantes, sendo 72 elegíveis, 69 randomizados e 68 acompanhados, entre outubro de 2012 e julho de 2013. Tanto para participantes HIV, quanto para coinfectados pelo HCV, foi observado aumento significativo dos valores de AF nos grupos que receberam a intervenção ($P < 0,001$). A variação de homocisteína foi negativa, independente do status de infecção, para os grupos que receberam

intervenção. Contudo, variação positiva de AF e variação negativa de homocisteína não foram acompanhadas de alterações na FMD nos participantes HIV ($P=0,9$), e apresentaram tendência de variação negativa na FMD nos participantes HIV-HCV ($P=0,07$).

Conclusão: em indivíduos infectados pelo HIV, a administração de AF reduziu homocisteína sérica, mas não modificou FMD na artéria braquial. Em indivíduos coinfectados HIV-HCV o efeito da administração de AF reduziu a homocisteína sérica, mas pareceu piorar a disfunção endotelial.

Palavras chave: HIV/AIDS, Disfunção endotelial, HCV, FMD, Ácido Fólico.

Introdução

Indivíduos infectados pelo HIV apresentam risco de desenvolver doença arterial coronariana (DAC) associado à presença de fatores de risco tradicionais, como Diabetes Mellitus e hipertensão arterial ^(1,2). O uso de TARV altera o perfil metabólico dos pacientes infectados ⁽³⁾, gerando um estado de inflamação crônica e ativação imune relacionada ao HIV ⁽⁴⁾. Contudo, os mecanismos envolvidos não estão completamente elucidados ^(5,6).

Em indivíduos com DAC, não infectados pelo HIV, níveis elevados de homocisteína foram associados a maior taxa de eventos vasculares e mortalidade ⁽⁷⁾. O efeito deletério da homocisteína sobre a parede vascular, seja por alta reatividade ou produção de fibrose na camada íntima, parece ser mais acentuado na presença de doença cardiovascular (DCV) estabelecida ⁽⁸⁾ e constitui etapa inicial no desenvolvimento de disfunção endotelial. A inclusão de níveis plasmáticos de homocisteína na predição de mortalidade em 10 anos, pelo escore de Framingham, permite reclassificar indivíduos com risco moderado ⁽⁹⁾. Níveis elevados de homocisteína parecem ser mediados pela deficiência de AF e vitamina B12 ^(10,11), os quais participam como substratos na via de metilação da mesma.

Em indivíduos infectados pelo HIV a homocisteína tem sido pouco estudada ^(12,13), assim como o efeito da administração de AF ou seu precursor - ácido folínico - ⁽¹⁴⁾. Além disso, a associação entre níveis de homocisteína e coinfeção HIV-HCV foi determinada em estudo observacional ⁽¹⁵⁾ e apenas um ECR avaliou sua variação mediante suplementação de AF versus placebo ⁽¹⁴⁾. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito, a curto prazo, da suplementação de AF sobre níveis de homocisteína, vitamina B12 e FMD em indivíduos infectados pelo HIV e coinfectados pelo HCV, sob TARV.

Participantes e Métodos

Desenho do estudo

Realizou-se um ECR, controlado por placebo, com cegamento de médicos, participantes e pesquisadores, no qual os participantes foram randomizados, com taxa de alocação de 1:1, para receberem AF ou placebo, durante quatro semanas.

Participantes

Foram arrolados indivíduos infectados pelo HIV, acompanhados no ambulatório de doenças infecciosas, do Hospital Universitário de Santa Maria, no sul do Brasil, com idade entre 18-50 anos, de ambos os sexos, com infecção pelo HIV ou coinfectados por HIV-HCV, em TARV e com carga viral indetectável há mais de seis meses. Excluíram-se participantes com Diabetes Mellitus, infarto agudo do miocárdio, revascularização miocárdica, ou acidente vascular encefálico prévios, com creatinina $>1,5$ mg/dL, diagnóstico clínico, ecográfico, endoscópico ou laboratorial de cirrose hepática, em uso de estatinas, fibratos, terapia de reposição hormonal, sulfonamidas, suplementos vitamínicos, ou AF nos últimos 30 dias. Adicionalmente foram excluídas mulheres grávidas, e participantes de outro ECR.

Intervenção

Indivíduos alocados para o grupo intervenção receberam AF, cinco mg, via oral, em dose única diária, administrada pela manhã, durante quatro semanas. Os participantes alocados para grupo placebo receberam orientação para seguir a mesma posologia, sendo os comprimidos indistinguíveis em cor, aroma, sabor, forma e tamanho. A manipulação dos comprimidos foi realizada por farmacêutico, utilizando um único lote do AF ou placebo, em laboratório independente, não envolvido no estudo, e os frascos contendo 30 comprimidos foram identificados por código alfanumérico e armazenados.

Desfechos

Utilizaram-se como desfechos as variações nos níveis de homocisteína, vitamina B12 e na FMD durante a hiperemia reativa, aferida por Doppler, na artéria braquial, obtidos na

randomização e ao final do seguimento. Caracterizou-se a FMD pela variação do fluxo arterial médio, medida pelos diâmetros vasculares basal e de pico.

Tamanho amostral

Realizou-se cálculo de tamanho da amostra a partir dos resultados obtidos por ECR prévio⁽¹⁴⁾, que empregou pletismografia na aferição da FMD. Estimando-se uma diferença de pelo menos 6% entre os grupos intervenção e placebo, com desvio padrão variando entre 5% e 7%, seria necessário randomizar pelo menos 17 indivíduos por grupo, por status de infecção, para obter-se poder de 80% e intervalo de confiança de 95%.

Análise estatística

Análises foram realizadas por intenção de tratar, utilizando-se o programa *IBM SPSS Statistics for Windows* (versão 21,0, 2012; IBM Corporation, Armonk, NY, USA). As dosagens de homocisteína, vitamina B12, FMD e das demais variáveis laboratoriais e pressão arterial foram comparadas através de ANOVA para medidas repetidas, testando-se a interação tempo: tratamento. Foi testada a interação para a condição status da infecção e na ausência de interação a análise permitiu desconsiderar o status da coinfeção. A significância estatística foi estabelecida por nível de significância inferior a 0,05 (bi-caudal).

Randomização e sigilo da alocação

A alocação dos participantes foi feita através de randomização estratificada pelo tipo de infecção: HIV ou HIV-HCV, com blocos de tamanhos variados (quatro e seis), gerada no *Random allocation software*, previamente ao início do estudo, por pesquisador não envolvido no atendimento dos participantes. A Figura 1 apresenta o diagrama de fluxo do estudo segundo a alocação para um de quatro grupos (HIV-intervenção, HIV-HCV-intervenção, HIV-placebo HIV-HCV-placebo).

Assegurou-se o sigilo da alocação mantendo-se a liberação de códigos via central telefônica de randomização, mediante o fornecimento de nome completo e data de nascimento do participante, e cegamento de toda a equipe de pesquisa e dos participantes. O consentimento informado foi obtido antes da randomização do participante.

Procedimentos

Participantes foram avaliados por médicos certificados utilizando questionário padronizado, medidas antropométricas e pressão arterial, sendo essas aferidas em duplicata e triplicata, respectivamente. Características demográficas, socioeconômicas, estilo de vida e eventos adversos foram obtidos através de entrevista; enquanto status da infecção, comorbidades e uso de antirretrovirais foram coletados de registros ambulatoriais. Amostras de sangue foram coletadas após a randomização e na avaliação, ao final do ensaio clínico, para dosagens plasmáticas de AF, vitamina B12 e homocisteína, além de colesterol total, colesterol-HDL, triglicerídeos, glicemia de jejum e creatinina.

Peso e estatura foram aferidos utilizando balança eletrônica (Balança Personal 180, Filizola[®], São Paulo, Brasil), com precisão de 100 gramas, e estadiômetro acoplado, com precisão de um cm. Pressão arterial foi aferida de forma padronizada, utilizando-se monitor oscilométrico (OMRON HEM-705 CP, OMRON, Matsuzaka, Mie, Japão), com manguito adequado a circunferência do braço.

A função endotelial foi avaliada por FMD, obtida pelo diâmetro basal e de pico após hiperemia reativa, utilizando ultrassonografia de alta resolução com Doppler (*Esaote MyLab25Gold, Esaote Healthcare.*, Genova, Itália) de acordo com técnica recomendada^(16, 17). Cada participante foi orientado a não consumir produtos ricos em cafeína, abster-se de tabaco e suspender uso de medicamentos de ação cardiovascular por pelo menos 24 horas prévias à avaliação da FMD. Em jejum de 8 horas, e após 30 minutos de repouso em sala silenciosa e com temperatura constante de 22 °C, a artéria braquial foi identificada em torno de cinco centímetros acima da fossa antecubital, com um transdutor linear multifrequencial (10 a 12 MHz). O ponto exato de visualização foi medido e marcado para repetição futura. Um manguito de pressão no antebraço ipsilateral foi inflado até 20 mmHg acima da pressão arterial sistólica e mantido inflado por 5 minutos. Após deflação do manguito e indução de hiperemia reativa, diâmetro da artéria braquial e a velocidade de pico sistólico do fluxo foram continuamente registrados até 120 segundos. As médias de três medidas consecutivas de ambas as variáveis foram calculadas a partir do tempo zero (basal) a cada 4 segundos até o vigésimo segundo, e depois a cada 10 segundos até 120 segundos pós-deflação do manguito no antebraço⁽¹⁷⁾. FMD foi calculada como o percentual máximo de mudança do diâmetro arterial em relação ao basal. Todas as imagens obtidas foram analisadas por investigador cegado não envolvido na avaliação dos participantes ou análise dos dados.

Aspectos éticos

O estudo foi realizado em conformidade com as normas internacionais de ética da Declaração de Helsinque e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria. Os participantes aceitaram participar e assinaram consentimento livre e esclarecido. O ensaio clínico foi submetido à plataforma do Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC), sendo aprovado sob número de registro: RBR-9366qc.

Resultados

Realizou-se o rastreamento de 239 participantes, sendo 72 elegíveis, 69 randomizados e 68 acompanhados, entre outubro de 2012 e julho de 2013. A Figura 1 mostra que 167 participantes não preencheram critérios de elegibilidade, predominantemente por carga viral detectável ou idade acima de 50 anos, e três recusas em participar. Entre os 69 participantes randomizados, 16 infectados pelo HIV receberam intervenção e 19 receberam placebo, enquanto entre os coinfectados por HIV-HCV 17 receberam intervenção e 17 receberam placebo. A figura 1 ilustra o fluxograma desde a elegibilidade até a análise dos participantes.

A Tabela 1 mostra que entre indivíduos infectados pelo HIV, os grupos eram semelhantes quanto à idade, índice de massa corporal, pressão sistólica e diastólica, colesterol e frações, glicemia, variáveis de interesse e associadas à infecção. Contudo, entre monoinfectados pelo HIV, o grupo intervenção apresentou maior proporção de homens, menor prevalência de tabagismo, níveis de triglicérides mais baixos, e de AF mais elevado, comparativamente ao grupo placebo. No grupo de coinfectados pelo HCV recebendo intervenção houve menor proporção de homens, tabagismo, níveis pressóricos mais elevados, comparativamente ao grupo placebo, e diferenças nas classes de antirretrovirais. Contudo essas diferenças nas frequências não foram estatisticamente significativas.

As Tabelas 2 e 3 mostram a variação de AF, homocisteína sérica, vitamina B12, e FMD, obtido entre o final do seguimento e a linha de base, para participantes infectados pelo HIV ou em coinfeção pelo HCV. Observa-se, na Tabela 2, que entre indivíduos infectados pelo HIV houve aumento marcante nos níveis de AF - cerca de 12 ng/ml – no grupo intervenção, mas no grupo placebo a variação foi mínima. Em relação à variação de homocisteína, por outro lado, houve redução nos níveis plasmáticos no grupo intervenção e aumento mínimo no grupo placebo. Não houve variação significativa nos níveis séricos de vitamina B12 e FMD.

Entre indivíduos coinfectados por HIV-HCV (Tabela 3), a variação nos níveis de AF foi decorrente da elevação no grupo intervenção (12,6 ng/ml) e redução no grupo placebo (0,7 ng/ml). Os níveis de homocisteína aumentaram no grupo placebo e diminuíram minimamente no grupo intervenção. Não houve variação significativa no nível de vitamina B12 entre os grupos. Em relação ao FMD, houve tendência à redução percentual no grupo intervenção e aumento no grupo placebo ($P=0,07$). A análise de interação tempo: tratamento: status da infecção não mostrou associação significativa para FMD ($P=0,15$) e também para homocisteína ($P=0,5$).

A Tabela 4 mostra que entre indivíduos infectados pelo HIV, a variação da pressão arterial sistólica foi decorrente da elevação no grupo intervenção (3,9 mmHg), e diminuição (2,8 mmHg) no grupo placebo ($P=0,02$). Nos indivíduos coinfectados por HIV-HCV, a variação se deu por elevação significativa da pressão arterial sistólica no grupo placebo (6,8 mmHg), e redução mínima no grupo intervenção ($P=0,05$). Não houve variação significativa da pressão diastólica, colesterol total e frações, e triglicérides, nos grupos intervenção ou placebo, independentemente do status de infecção.

Discussão

A administração de AF durante quatro semanas elevou o nível plasmático de AF e reduziu o nível de homocisteína em indivíduos infectados pelo HIV e em coinfectados por HIV-HCV. Contudo, a variação de FMD foi diferente entre os grupos HIV e HIV-HCV. Nos indivíduos infectados pelo HIV, a elevação de AF e redução de homocisteína não se acompanhou de melhora da disfunção endotelial.

Esse resultado diverge daquele obtido em ECR prévio, no qual indivíduos com características clínicas similares, apresentaram melhora significativa da FMD após suplementação de AF, pelo mesmo período de tempo (Grigoletti *et al.*, 2013). Entre potenciais explicações, deve ser considerada a diferença nos métodos de aferição da FMD, Doppler de artéria braquial, usado no presente estudo versus pletismografia, empregado no ECR prévio. Além de seguir recomendações atuais para aferição de FMD^(16, 17), as diretrizes não indicam superioridade de um método frente ao outro⁽¹⁸⁾. Outro aspecto é que as avaliações são observador-dependente e nos dois ECRs um único avaliador realizou os exames, sendo ambos experientes e treinados^(19,20). Por outro lado, na análise de FMD observou-se pequena variação percentual no diâmetro arterial o que pode ter reduzido o poder estatístico do estudo. Contudo, análise de todos os participantes segundo o grupo de

tratamento, independente do status da infecção, proveu maior poder estatístico, mas também não foi estatisticamente significativa. Além disso, os níveis de AF na linha de base sugerem que os participantes talvez estivessem acima do nível para o qual poderia ser observado benefício ⁽²¹⁾.

Em indivíduos coinfectados por HIV-HCV, a administração de AF elevou os níveis de AF, reduziu os níveis de homocisteína, mas apresentou tendência à piora da disfunção endotelial no grupo intervenção. A variação negativa de FMD em coinfectados sugere resposta vascular diversa daquela observada em indivíduos monoinfectados pelo HIV. Dadas as diferenças observadas na linha de base entre as classes de antirretrovirais, a variação observada na FMD poderia estar associada ao emprego de IP ou ITRNN. Contudo, como todos os participantes estavam em uso de TARV, essa explicação possui caráter exploratório e deve ser propriamente testada. A análise do impacto de determinada classe de antirretrovirais sobre os desfechos pode ser limitada pela amostra em cada grupo e status de infecção.

A detecção de tendência à associação entre administração de AF e FMD sugere falta de poder estatístico, o que não poderia ser minimizado pela agregação dos grupos intervenção e placebo, independente do status da infecção. A ausência de interação tempo: tratamento: status da infecção permitiria essa agregação dos grupos, mas impediria o teste de hipóteses - efeito da administração de AF em coinfectados pelo HCV.

A redução nos níveis de homocisteína entre os grupos AF e placebo, tanto entre infectados pelo HIV quanto coinfectados pelo HCV, está de acordo com o observado entre indivíduos não infectados pelo HIV ^(22,23). Portanto, nossos resultados confirmam o descrito por Grigoletti e col. para monoinfectados e são originais para coinfectados. Em conjunto, sugerem que os mecanismos de regulação do AF e homocisteína decorrentes da administração de AF são os mesmos de indivíduos não infectados.

Conclusão

Em conclusão, em indivíduos infectados pelo HIV, a administração de AF reduz homocisteína sérica, mas não modifica FMD na artéria braquial. Em indivíduos coinfectados pelo HCV o efeito da administração de AF também reduz a homocisteína sérica, mas parece piorar a disfunção endotelial. Estudos adicionais devem ser realizados, com atenção especial ao status de coinfecção pelo HCV.

Conflito de interesses

Declaramos não haver conflitos de interesses.

Referências bibliográficas

1. Fuchs SC, Alencastro PR, Ikeda ML, Barcellos NT, Wolff FH, Brandao AB, et al. Risk of coronary heart disease among HIV-infected patients: a multicenter study in Brazil. *TheScientificWorldJournal*. 2013;2013:163418. Epub 2013/11/14. doi: 10.1155/2013/163418. PubMed PMID: 24223499; PubMed Central PMCID: PMC3809373.
2. Post WS, Budoff M, Kingsley L, Palella FJ, Jr., Witt MD, Li X, et al. Associations between HIV infection and subclinical coronary atherosclerosis. *Annals of internal medicine*. 2014;160(7):458-67. Epub 2014/04/02. doi: 10.7326/M13-1754. PubMed PMID: 24687069; PubMed Central PMCID: PMC4143766.
3. Alencastro PR, Fuchs SC, Wolff FH, Ikeda ML, Brandao AB, Barcellos NT. Independent predictors of metabolic syndrome in HIV-infected patients. *AIDS patient care and STDs*. 2011;25(11):627-34. Epub 2011/09/23. doi: 10.1089/apc.2010.0360. PubMed PMID: 21936688.
4. Ssinabulya I, Kayima J, Longenecker C, Luwedde M, Semitala F, Kambugu A, et al. Subclinical atherosclerosis among HIV-infected adults attending HIV/AIDS care at two large ambulatory HIV clinics in Uganda. *PloS one*. 2014;9(2):e89537. Epub 2014/03/04. doi: 10.1371/journal.pone.0089537. PubMed PMID: 24586854; PubMed Central PMCID: PMC3938501.
5. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007;115(10):1285-95. Epub 2007/03/14. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.652859. PubMed PMID: 17353456.
6. Masia M, Gutierrez F. [HIV-related cardiovascular risk factors]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 2009;27 Suppl 1:17-23. Epub 2010/02/23. doi: 10.1016/S0213-005X(09)73441-X. PubMed PMID: 20172411.
7. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *The New England journal of medicine*. 1997;337(4):230-6. Epub 1997/07/24. doi: 10.1056/NEJM199707243370403. PubMed PMID: 9227928.
8. Evans RW, Shaten BJ, Hempel JD, Cutler JA, Kuller LH. Homocyst(e)ine and risk of cardiovascular disease in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 1997;17(10):1947-53. Epub 1997/11/14. PubMed PMID: 9351358.
9. Veeranna V, Zalawadiya SK, Niraj A, Pradhan J, Ference B, Burack RC, et al. Homocysteine and reclassification of cardiovascular disease risk. *Journal of the American College of Cardiology*. 2011;58(10):1025-33. Epub 2011/08/27. doi: 10.1016/j.jacc.2011.05.028. PubMed PMID: 21867837.
10. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of

- increasing folic acid intakes. *Jama*. 1995;274(13):1049-57. Epub 1995/10/04. PubMed PMID: 7563456.
11. Eikelboom JW, Lonn E, Genest J, Jr., Hankey G, Yusuf S. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Annals of internal medicine*. 1999;131(5):363-75. Epub 1999/09/04. PubMed PMID: 10475890.
 12. Uccelli MC, Torti C, Lapadula G, Labate L, Cologni G, Tirelli V, et al. Influence of folate serum concentration on plasma homocysteine levels in HIV-positive patients exposed to protease inhibitors undergoing HAART. *Annals of nutrition & metabolism*. 2006;50(3):247-52. Epub 2006/03/02. doi: 10.1159/000091682. PubMed PMID: 16508252.
 13. Remacha AF, Cadafalch J, Sarda P, Barcelo M, Fuster M. Vitamin B-12 metabolism in HIV-infected patients in the age of highly active antiretroviral therapy: role of homocysteine in assessing vitamin B-12 status. *The American journal of clinical nutrition*. 2003;77(2):420-4. Epub 2003/01/24. PubMed PMID: 12540403.
 14. Grigoletti SS, Guindani G, Moraes RS, Ribeiro JP, Sprinz E. Short-term folic acid supplementation improves vascular reactivity in HIV-infected individuals: a randomized trial. *Nutrition*. 2013;29(6):886-91. Epub 2013/05/11. doi: 10.1016/j.nut.2013.01.015. PubMed PMID: 23660169.
 15. Roca B, Bannasar M, Ferrero JA, del Monte MC, Resino E. Hepatitis C virus co-infection and sexual risk behaviour are associated with a high homocysteine serum level in HIV-infected patients. *Swiss medical weekly*. 2012;141:w13323. Epub 2012/01/19. doi: 10.4414/smw.2011.13323. PubMed PMID: 22252925.
 16. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, Padilla J, Atkinson G, Harris RA, et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2011;300(1):H2-12. Epub 2010/10/19. doi: 10.1152/ajpheart.00471.2010. PubMed PMID: 20952670; PubMed Central PMCID: PMC3023245.
 17. Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, Richardson RS. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. *Hypertension*. 2010;55(5):1075-85. Epub 2010/03/31. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.150821. PubMed PMID: 20351340; PubMed Central PMCID: PMC2878744.
 18. Lekakis J, Abraham P, Balbarini A, Blann A, Boulanger CM, Cockcroft J, et al. Methods for evaluating endothelial function: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*. 2011;18(6):775-89. Epub 2011/04/01. doi: 10.1177/1741826711398179. PubMed PMID: 21450600.
 19. Bau PF, Bau CH, Naujorks AA, Rosito GA. Early and late effects of alcohol ingestion on blood pressure and endothelial function. *Alcohol*. 2005;37(1):53-8. Epub 2006/02/14. doi: 10.1016/j.alcohol.2005.10.034. PubMed PMID: 16472719.

20. Guindani G, Umpierre D, Grigoletti SS, Vaz M, Stein R, Ribeiro JP. Blunted local but preserved remote vascular responses after resistance exercise in chronic heart failure. *European journal of preventive cardiology*. 2012;19(5):972-82. Epub 2011/08/05. doi: 10.1177/1741826711418931. PubMed PMID: 21813573.
21. Rimm EB, Stampfer MJ. Folate and cardiovascular disease: one size does not fit all. *Lancet*. 2011;378(9791):544-6. Epub 2011/08/02. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61057-X. PubMed PMID: 21803413.
22. Thambyrajah J, Landray MJ, Jones HJ, McGlynn FJ, Wheeler DC, Townend JN. A randomized double-blind placebo-controlled trial of the effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid on endothelial function in patients with coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001;37(7):1858-63. Epub 2001/06/13. PubMed PMID: 11401123.
23. Mangoni AA, Sherwood RA, Swift CG, Jackson SH. Folic acid enhances endothelial function and reduces blood pressure in smokers: a randomized controlled trial. *Journal of internal medicine*. 2002;252(6):497-503. Epub 2002/12/11. PubMed PMID: 12472909.

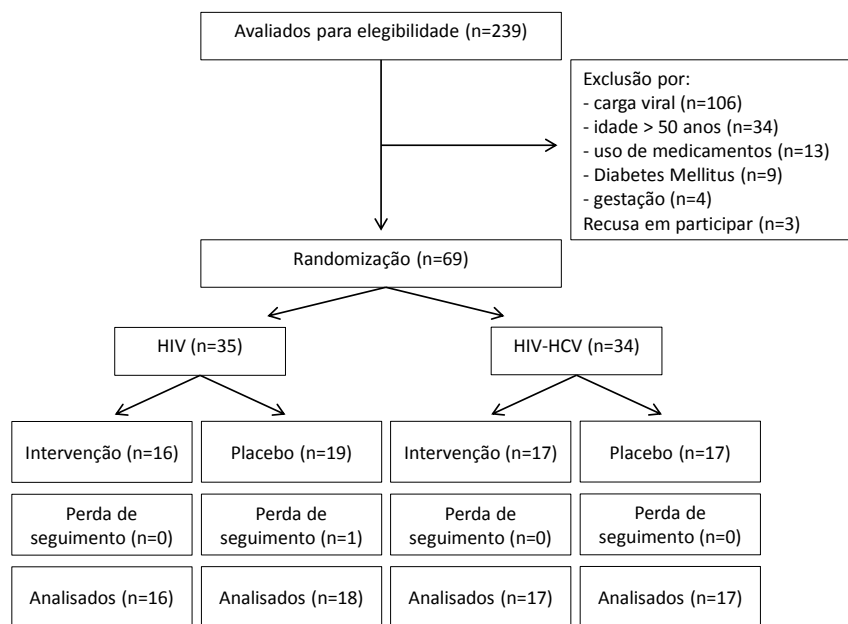


Figura 1. O fluxograma apresenta o arrolamento, randomização, seguimento e análise .

Os participantes foram arrolados após atendimento ambulatorial. Indivíduos que preencheram os critérios de inclusão foram distribuídos aleatoriamente para receber placebo ou ácido fólico, de acordo com randomização estratificada pelo status de infecção: HIV ou HIV-HCV. O seguimento foi de quatro semanas até avaliação dos desfechos.

Tabela 1. Características de base [n (%) ou média ± DP]

	HIV		HIV-HCV	
	Placebo (n=19)	Intervenção (n=16)	Placebo (n=17)	Intervenção (n=17)
Sexo (masculino)	8 (42,1)	11 (68,8)	11 (64,7)	9 (52,9)
Idade (anos)	35,6 ± 7,4	36,8 ± 7,0	39,5 ± 5,7	42,0 ± 5,5
Cor branca	11 (57,9)	11 (68,8)	8 (47,1)	12 (70,6)
Escolaridade (anos)	8,9 ± 4,3	7,6 ± 5,0	6,6 ± 2,9	8,3 ± 2,9
Tabagismo	11 (57,9)	7 (43,8)	9 (52,9)	5 (29,4)
Índice de massa corporal (kg/m ²)	24,3 ± 4,7	23,6 ± 3,6	24,5 ± 2,9	24,9 ± 4,7
Pressão arterial sistólica (mmHg)	120,7 ± 13,6	120,3 ± 12,3	114,6 ± 15,2	129,6 ± 21,5
Pressão arterial diastólica (mmHg)	71,9 ± 10,0	73,6 ± 9,4	72,3 ± 11,2	83,0 ± 16,5
Colesterol total (mg/dL)	193,4 ± 52,7	192,3 ± 43,7	171,3 ± 37,5	157,8 ± 36,9
Colesterol LDL (mg/dL)	115,2 ± 36,9	119,0 ± 36,4	95,7 ± 40,5	91,2 ± 30,3
Colesterol HDL (mg/dL)	45,9 ± 12,8	49,7 ± 18,1	41,5 ± 14,2	47,7 ± 14,1
Triglicérides (mg/dL)	159,2 ± 145,4	118,7 ± 78,0	171,1 ± 160,9	95,4 ± 37,8
Glicemia de jejum (mg/dL)	80,0 ± 6,5	80,7 ± 9,1	87,8 ± 8,7	87,6 ± 10,6
Ácido fólico (ng/ml)	7,4 ± 4,4	10,7 ± 4,2	9,5 ± 5,3	9,3 ± 3,9
Homocisteína (umol/l)	10,5 ± 5,3	10,0 ± 2,3	9,5 ± 4,1	10,6 ± 3,3
Vitamina B12 (pg/ml)	382,8 ± 181,2	449,8 ± 166,8	515,5 ± 281,3	485,2 ± 195,4
Creatinina (mg/dl)	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,85 ± 0,1	0,85 ± 0,1
Tempo de TARV (anos)	4,7 ± 3,4	4,8 ± 3,6	6,0 ± 3,4	6,6 ± 3,6
Uso atual de ITRN	19 (100,0)	16 (100,0)	17 (100,0)	17 (100,0)
Uso atual de ITRNN	6 (31,6)	7 (43,8)	6 (35,3)	11 (64,7)
Uso atual de IP	13 (68,4)	9 (56,2)	11 (64,7)	6 (35,3)
Linfócitos CD4 (cels/mm ³)	532,7 ± 212,5	504,4 ± 200,9	619,2 ± 271,2	535,8 ± 257,5

DP, desvio padrão; HDL, colesterol de alta densidade; IMC, índice de massa corporal; ITRN, inibidor da transcriptase reversa nucleotídeo; ITRNN, inibidor da transcriptase reversa não nucleotídeo; IP, inibidor de protease; LDL, colesterol de baixa densidade; TARV, terapia antirretroviral.

Tabela 2. Parâmetros da função vascular (média ± DP) em infectados pelo HIV

	Grupo	Depois	Antes	Delta	Valor P
Ácido fólico (ng/ml)	Intervenção	23,5 ± 1,8	10,7 ± 4,2	12,8 ± 4,8	<0,001
	Placebo	7,6 ± 4,2	7,4 ± 4,4	0,2 ± 2,5	
Homocisteína (umol/l)	Intervenção	8,1 ± 1,7	10,0 ± 2,3	-1,9 ± 2,2	0,01
	Placebo	11, ± 6,9	10,5 ± 5,3	0,4 ± 2,8	
Vitamina B12 (pg/ml)	Intervenção	440,5 ± 160,5	449,5 ± 172,7	-9,1 ± 91,6	0,22
	Placebo	419,6 ± 211,6	382,8 ± 181,2	36,7 ± 114,4	
FMD (%)	Intervenção	13,7 ± 7,7	13,4 ± 6,5	0,3 ± 7,2	0,9
	Placebo	13,5 ± 5,3	13,8 ± 7,2	-0,3 ± 10,3	

DP, desvio padrão; FMD, dilatação mediada pelo fluxo.

Tabela 3. Parâmetros da função vascular (média ± DP) em infectados pelo HIV-HCV

	Grupo	Depois	Antes	Delta	Valor P
Ácido fólico (ng/ml)	Intervenção	21,9 ± 4,4	9,3 ± 3,9	12,6 ± 5,9	<0,001
	Placebo	8,9 ± 5,0	9,5 ± 5,3	-0,7 ± 5,6	
Homocisteína (umol/l)	Intervenção	9,6 ± 2,6	10,6 ± 3,3	-1,0 ± 3,0	0,003
	Placebo	14,1 ± 7,5	9,5 ± 4,1	4,6 ± 6,6	
Vitamina B12 (pg/ml)	Intervenção	504,2 ± 214,3	485,2 ± 195,5	19,0 ± 144,7	0,6
	Placebo	511,1 ± 274,0	515,5 ± 281,2	-4,4 ± 97,4	
FMD (%)	Intervenção	11,0 ± 3,4	13,5 ± 8,1	-2,5 ± 7,7	0,07
	Placebo	13,9 ± 11,2	10,3 ± 4,7	3,6 ± 10,8	

DP, desvio padrão; FMD, dilatação mediada pelo fluxo.

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos e pressóricos (média ± DP)

	Grupo	HIV		Valor P	HIV-HCV		Valor P
		Depois	Antes		Depois	Antes	
Pressão arterial sistólica (mmHg)	Intervenção	123,4 ± 10,7	119,5 ± 12,3	0,02	128,3 ± 21,3	129,6 ± 21,5	0,05
	Placebo	117,9 ± 14,3	120,7 ± 13,6		121,4 ± 15,3	114,6 ± 15,2	
Pressão arterial diastólica (mmHg)	Intervenção	76,0 ± 11,0	72,4 ± 8,3	0,3	84,8 ± 15,6	83,0 ± 16,5	0,7
	Placebo	72,5 ± 8,5	71,9 ± 10,0		75,5 ± 12,9	72,3 ± 11,2	
Colesterol total (mg/dL)	Intervenção	194,1 ± 47,5	193,5 ± 45,0	0,9	153,9 ± 36,8	157,8 ± 36,9	0,4
	Placebo	194,3 ± 52,2	193,4 ± 52,7		172,0 ± 38,4	171,3 ± 37,5	
Colesterol LDL (mg/dL)	Intervenção	118,2 ± 32,6	119,4 ± 37,7	0,7	88,8 ± 28,8	91,2 ± 30,3	0,4
	Placebo	116,8 ± 41,1	115,2 ± 36,9		99,4 ± 33,9	95,7 ± 40,5	
Triglicerídeos (mg/dL)	Intervenção	138,6 ± 72,7	124,7 ± 76,9	0,5	96,3 ± 31,1	95,4 ± 37,8	0,5
	Placebo	161,7 ± 156	159,2 ± 145		150,3 ± 90	171,1 ± 160	

DP, desvio padrão; LDL, colesterol de baixa densidade.

7. ARTIGOS

7.2 ARTIGO 2

TÍTULO: Papel do ácido fólico na prevenção de dano ao endotélio vascular: uma revisão.

TÍTULO EM INGLÊS: Role of folic acid in preventing injury to the vascular endothelium: a review.

Fábio L. Pedro, M.D.,^{a,b} Sandra C. Fuchs, Ph.D, M.D.,^a Helen M. Cezimbra, M.D.,^b Cecília M. P. Pedro,^b Fernanda P. Franchini,^b Luiz F. Barin,^b Pedro R. Magno,^b Miguel Roehrs.^b

^a Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

^b Serviço de Doenças Infecciosas, Hospital Universitário de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Endereço para correspondência:

Prof^a Dra Sandra Costa Fuchs

Centro de Pesquisa Clínica, 5º andar - Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Ramiro Barcellos 2350, 2º andar, CEP: 90035-003, Porto Alegre – RS, Brasil. E-mail: scfuchs@terra.com.br; Telefone: +55 55 33596362

Formatado para ser enviado à Revista Brasileira de Epidemiologia.

Papel do ácido fólico na prevenção de dano ao endotélio vascular: uma revisão.

Resumo:

O ácido fólico (AF), por ser uma vitamina envolvida em um grande número de processos bioquímicos essenciais, também tem importante papel na medicina, principalmente a partir da sua ação na metilação do DNA. A deficiência desta vitamina tem sido relacionada à hiper-homocisteinemia, em vários estudos. Seu papel ainda é incerto na prevenção cardiovascular. A utilização do AF, e sua relação com os níveis de homocisteína sérica, com o propósito de prevenir disfunção endotelial é descrito neste levantamento bibliográfico, que tem a intenção de somar esforços na direção do estabelecimento de estratégias intervencionistas que reduzam o risco cardiovascular, especialmente em populações com fatores de risco não tradicionais, como indivíduos com hiper-homocisteinemia ou em portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV).

Métodos: Foi realizada uma revisão sistemática de literatura na base de dados PUBMED. Para verificar a ação do AF sobre o endotélio vascular, foram analisados aspectos como o tipo de intervenção (ácido fólico), método utilizado para medir disfunção endotelial, delineamentos (ensaios clínicos randomizados e metanálises). Os termos utilizados para tal busca foram: (((((folate) OR folic) OR folinic)) AND ((FMD) OR flow mediated)) AND ((endothelial) OR endotheli*). Os ECRs deveriam apresentar AF na intervenção, e desfecho sobre resposta vascular. As metanálises deveriam apresentar desfechos sobre risco ou eventos cardiovasculares.

Palavras-chave: ácido fólico; disfunção endotelial; homocisteína; risco cardiovascular; aterosclerose; HIV.

Introdução

Nas últimas duas décadas foi amplamente avaliado o papel do ácido fólico (AF) na prevenção de doença cardiovascular (DCV) ^(1,2,3,4). Vários estudos relataram efeitos benéficos do AF sobre a função endotelial ⁽⁵⁾, um aspecto relevante no estabelecimento de mecanismos de risco cardiovascular. Estudos observacionais caracterizaram associação entre níveis de AF e morbidade ou mortalidade cardiovascular ⁽⁶⁾. Contudo, os mecanismos de ação do AF sobre o endotélio não foram completamente elucidados.

A detecção de que a administração de AF poderia melhorar a função vascular, por reduzir os níveis de homocisteína ⁽⁷⁾, levou os estudos a focarem o efeito sobre a redução de homocisteína ⁽⁸⁾. Contudo, alguns estudos relataram benefícios independentes de redução da homocisteína ^(9,10). Um número crescente de estudos revisaram fatores nutricionais, entre eles o AF, associados à prevenção de DCV ^(11,12).

Metabolismo do AF sobre níveis de homocisteína

O folato e AF são formas hidrossolúveis da vitamina B. O folato ocorre naturalmente nos alimentos enquanto o AF é a forma sintética dessa vitamina, sendo encontrado em suplementos e alimentos fortificados ⁽¹³⁾. A denominação folato tem origem do latim da palavra “folium” significado de folhas verdes, tendo sua principal fonte primária, os alimentos de origem vegetal ⁽¹⁴⁾.

O AF faz parte de vias metabólicas e processos bioquímicos essenciais para a vida, incluindo atuação como cofator na biossíntese de nucleotídeos, timidilato e reações de metilação ⁽¹⁵⁾. Os processos metabólicos dependentes de AF são influenciados por sua ingestão e de outros nutrientes essenciais, como vitaminas B12 e B6. ^(14,15). As reações que requerem AF são referidas como reações de metilação, incluindo as envolvidas nas fases de síntese de purinas e pirimidinas, metabolismo de aminoácidos e na formação do doador de grupamento metil, envolvido em mais de 100 reações de transferências ⁽¹⁵⁾. O AF endógeno circulante, sob a forma de 5-metiltetrahydrofolato, é transportado no plasma ligado a proteínas de baixa afinidade, principalmente a albumina (Bhargava, 2014). Nos tecidos, o transporte de AF ocorre por sistemas complexos através de carreadores de alta e baixa afinidade, que se ligam a receptores de AF. Em seres humanos, o AF é excretado na urina e bile, em torno de 100 µg por dia ^(15,16).

A relação AF/hiper-homocisteinemia tem sido investigada no ciclo de remetilação da homocisteína para produzir metionina (aminoácido essencial) e na síntese de DNA ^(8,17). A molécula central dessas vias é o *tetrahidrofolato* (THF). A primeira metilação do THF depende da *serina*; a partir daí, a enzima MTHFR prepara o composto de AF atual (*5,10-metilenetetrahidrofolato*) para doar o grupamento metil (5-metil-THF) à homocisteína mediado pela metil sintase, gerando a metionina ^(15,16). Essa reação é dependente de vitamina B12. Esta via, chamada de remetilação, é um ciclo que regenera metionina - homocisteína – metionina.

No caso de deficiência de AF, todas as reações de metilação estarão comprometidas em graus variados, dependendo da afinidade da enzima MTHFR à molécula envolvida ⁽¹⁵⁾. Entre os vários substratos e intermediários das rotas metabólicas que se acumulam, destaca-se a homocisteína, associada a risco de doenças vasculares oclusivas e do sistema de coagulação sanguínea ⁽³⁾. A Figura 1 ilustra o papel do AF no metabolismo e seus possíveis mecanismos sobre o endotélio vascular, através da remetilação da homocisteína para produzir metionina ^(15,18).

Consumo de AF

O folato é o termo genérico para essa vitamina hidrossolúvel do complexo B. O AF é a forma mais oxidada e estável de folato, usada em suplementos vitamínicos e produtos alimentares fortificados ⁽¹⁹⁾.

A recomendação de ingestão de folato, para indivíduos adultos é de um consumo diário de pelo menos 400 mcg ^(13,20). O *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III 1988-91) e o *Continuing Survey of Foods Intakes by Individual* (1994-96 CSFII) indicaram que a maioria dos adultos não consome folato adequadamente ^(21,22). Considerando o risco de malformações de tubo neural em recém-nascidos, diversos países adotaram programas de fortificação dos alimentos com AF ⁽¹⁹⁾.

O AF é encontrado em uma grande variedade de alimentos. As fontes mais ricas são: o fígado, os vegetais de folha verde escura, os feijões, o gérmen de trigo, a gema de ovo, o linho, o pão de trigo integral ^(20,23). É absorvido em sua forma livre, por células da mucosa intestinal do duodeno e jejuno, onde sofre hidrólise, redução e metilação, transformando-se na sua forma ativa denominada 5 metil-tetrahidrofolato ⁽¹³⁾. É transportado, ligado a albumina até tecidos e fígado, onde é armazenado na forma de poliglutamato ⁽¹⁴⁾. Seres humanos possuem pequena reserva (10 a 15 mg), sendo

necessário o aporte diário, pois em três meses o estoque poderia ser esgotado ⁽¹⁴⁾. Alguns grupos populacionais apresentam risco aumentado de carência de AF: mulheres grávidas e crianças ⁽²⁴⁾, portadores de neoplasias ⁽²⁵⁾, portadores do HIV ^(26,27,28). Nestas situações supõem-se aumento de consumo ou defeitos na absorção intestinal do AF ⁽²⁹⁾.

Fortificação alimentar com AF

Defeitos do tubo neural são a causa da recomendação de suplementação diária de AF, em campanhas de saúde pública ⁽¹⁹⁾. Nos Estados Unidos, Canadá e Chile, a fortificação obrigatória aumentou as taxas de AF a nível populacional, com redução da frequência de defeitos do tubo neural em até 78%. No entanto, muitos países optaram por não aderir à fortificação obrigatória, seja por aguardarem estudos mais consistentes, ou por receio de riscos à saúde, em especial promoção de neoplasias pré-existentes, e mascaramento clínico de deficiências de vitamina B12 em populações de idosos ⁽¹⁹⁾. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária tornou obrigatória a fortificação das farinhas de trigo e de milho com ferro e ácido fólico, a partir de 2002.

Ação do AF sobre o endotélio vascular na população geral

Ensaio clínico randomizado (ECR) realizados na última década mostraram benefícios na redução de disfunção endotelial com a suplementação de AF e redução de homocisteína ^(3,4,30,31), ou mesmo independente da redução de homocisteína ^(10,32,33,34). Contudo, a hipótese de que a suplementação com AF melhore a função endotelial e diminua a concentração de homocisteína plasmática em indivíduos com doença arterial coronariana (DAC) permanece controversa. Em duas metanálises o tema foi amplamente discutido. Na primeira, os autores concluíram que a suplementação com AF, e a consequente redução de homocisteína, não cursou com redução consistente de risco cardiovascular ^(35,36), ao passo que na segunda metanálise a conclusão foi que a suplementação de AF melhorou significativamente a função endotelial e reduziu a concentração de homocisteína plasmática em indivíduos com DAC ⁽³⁷⁾. O quadro 1 mostra os achados dos principais ECRs, controlados por placebo, que avaliaram suplementação de AF sobre a FMD.

Em três metanálises de ECRs que avaliaram efeitos da suplementação por AF sobre risco cardiovascular ^(35,36,37) diferentes desfechos foram avaliados. Miller e

colaboradores publicaram uma metanálise avaliando o impacto da suplementação de AF sobre DCV, DAC, acidente vascular encefálico, e sua interação com os níveis séricos de homocisteína ⁽³⁵⁾. A estratégia de busca abrangeu o período compreendido entre janeiro de 1966 a julho de 2006, sem restrição de idioma. Os critérios de inclusão foram: (1) ECR; (2) intervenção com suplementação de AF; (3) grupos de intervenção e controle relatando o número de eventos para DCV, DAC, acidente vascular encefálico, ou mortalidade por qualquer causa; e (4) intervenção com duração de pelo menos seis meses. Foram excluídas: mulheres grávidas, crianças e os participantes com doença renal em estágio final. Foram analisados 14 ECRs, a maioria deles realizados na Europa e nos Estados Unidos. O número total de participantes randomizados nos quatorze ensaios foi 38.941, com ensaios individuais que variaram de 240 a 12.064 participantes. As doses de AF variaram entre de 0,5 a 5 mg/dia. Três estudos utilizaram suplemento isolado de AF, e os demais onze estudos utilizaram AF em combinação com vitamina B12 e/ou B6. Dois ECR foram realizados em países com programas de fortificação mandatória de AF, e outros dois estudos em países sem fortificação. O seguimento durou entre seis e 84 meses. Os resultados da metanálise mostram que a suplementação com AF não teve nenhum efeito global sobre DCV, mortalidade, ou acidente vascular encefálico. Análises adicionais mostraram maior risco de eventos cardiovasculares com a suplementação de AF, em participantes que tinham altos níveis de homocisteína no início do estudo. Uma possível explicação para os efeitos nulos da suplementação sobre os desfechos, é que vários ECR foram conduzidos em países com programas de fortificação de AF nos alimentos consumidos pela população (por exemplo, os Estados Unidos e Canadá). A magnitude da redução da homocisteína plasmática é dependente da concentração de homocisteína na linha de base e das concentrações de AF pré-tratamento. No entanto, apenas quatro de quatorze ECR foram conduzidos em países com fortificação. Análises estratificadas de subgrupos por status de fortificação não demonstraram diferenças significativas nos valores de homocisteína ($P=0,83$), nem para risco de eventos cardiovasculares ($P=0,17$), entre países com ou sem fortificação de AF. Sendo assim, concluiu-se que a suplementação com AF não deve ser recomendado como um meio de prevenir DCV ou acidente vascular encefálico ⁽³⁵⁾.

Yang e colaboradores ⁽³⁶⁾ através de uma busca estruturada no PUBMED, EMBASE e Cochrane, identificaram 26 ECRs, entre os quais constavam os quatorze ECRs avaliados por Miller, em 2010 ⁽³⁵⁾. A estratégia de busca utilizada abrangeu o período compreendido entre 1966 e 2012, sem restrição de idioma. Os critérios de

inclusão foram: (1) ECR; (2) intervenção com suplementação de AF com ou sem adição de vitamina B; (3) relato de pelo menos um evento entre: DCV, DAC, acidente vascular encefálico; e (4) intervenção com duração de pelo menos seis meses; (5) qualquer idade e ambos os sexos. Na análise, foram incluídos 58.804 indivíduos, com 30.323 (52%) participantes no grupo intervenção e 28.481 (48%) no grupo controle. A conclusão foi que a suplementação com AF não foi associada com mudança significativa no risco de DCV (RR: 0,98; 0,95-1,02; P=0,36), DAC (RR: 1,03; 0,98-1,08; P=0,23), e mortalidade por todas as causas (RR: 1,00; 0,96-1,04; P=0,92). Contudo, a metanálise identificou tendência para a diminuição do risco de acidente vascular encefálico (RR: 0,93; 0,86-1,00; P=0,05). Na análise estratificada, a única heterogeneidade significativa encontrada foi redução do risco de acidente vascular encefálico no grupo com fortificação (RR: 1,07; 0,92-1,25) versus o grupo sem tal medida (RR: 0,88; 0,81-0,96) (P para heterogeneidade = 0,03). Os autores concluíram que poderia haver um benefício modesto da suplementação de AF na prevenção de acidente vascular encefálico ⁽³⁶⁾.

Em 2014 foi publicada uma metanálise, contudo com número menor de ECRs selecionados ⁽³⁷⁾. A estratégia de busca foi realizada no PUBMED, no período entre 1966 e 2012, utilizando os termos ácido fólico ou folato, totalizando mais de 40 mil estudos. Em seguida foram utilizados limites (disfunção endotelial e homocisteína) limitando a 475 estudos; com a inserção de DAC ou DCV, o número de artigos foi limitado a 104 estudos, entre os quais 23 ECRs. Oito estudos mencionavam AF ou folato em seu título ou resumo, porém dois estudos foram excluídos por dados inapropriados. Os critérios de inclusão foram: (1) ECR; (2) intervenção com suplementação de AF; (3) indivíduos com DAC estabelecida; e (4) intervenção com duração de quatro a dezesseis semanas; (5) homocisteína dosada; (6) informação sobre FMD. Na análise, foram incluídos 377 indivíduos, com 191 (51%) participantes no grupo de intervenção e 186 (49%) no grupo controle. Os autores concluíram que a suplementação de AF, por pelo menos quatro semanas, reduziu os níveis de homocisteína, e cursou com melhora da FMD em indivíduos com DAC. Contudo, a metanálise incluiu apenas seis ECRs e na discussão do artigo, os autores apontaram vieses na condução desses ECRs, o que pode limitar a validade interna do estudo ⁽³⁷⁾.

Por fim, em função de indefinição no benefício da suplementação de AF sobre a função endotelial, uma avaliação crítica sugeriu que os resultados controversos podem decorrer da procedência do estudo ser de países com ou sem programas de fortificação alimentar com AF. A fortificação elevaria o nível populacional de folato e a

suplementação com AF tenderia a positividade em regiões com baixo folato e o resultado seria nulo em regiões de altos níveis de folato ⁽³⁸⁾. Além disso, os autores reforçaram limitações inerentes de uma metanálise, que podem gerar interpretações equivocadas baseadas em ECRs com limitações metodológicas. Os autores concluíram que por mais que centenas de estudos tenham investigado a associação entre homocisteína e DCV durante as últimas décadas e que os resultados de ECRs e estudos observacionais sejam discrepantes, o tema não está totalmente elucidado ⁽³⁸⁾.

Ação do AF sobre o endotélio vascular em população HIV

Indivíduos infectados pelo HIV apresentam risco de desenvolver doença arterial coronariana associado à presença de fatores de risco tradicionais, como diabetes mellitus e hipertensão arterial ^(39,40). Grigoletti e colaboradores ⁽⁴¹⁾ conduziram um ECR, controlado por placebo, para comparar os efeitos na FMD em 30 portadores do HIV, após quatro semanas de ingestão diária de cinco (5) mg de AF (n=15) ou placebo (n=15). Os participantes apresentaram condições de bom controle da doença (TARV > 6 meses, com carga viral indetectável e CD4 > 200 células/ mm³). A suplementação de AF, comparada ao placebo, melhorou significativamente a FMD (P < 0,017) ⁽⁴¹⁾.

Considerações finais

A disfunção endotelial é um evento precoce no desenvolvimento de aterosclerose ⁽⁴²⁾. Nível elevado de homocisteína induz lesão de células endoteliais, e aumenta a expressão dos participantes-chave da inflamação vascular e aterogênese ⁽⁴³⁾. A suplementação com AF reduz as concentrações de homocisteína sérica ⁽⁷⁾. Vários estudos têm mostrado que a redução homocisteína com suplementação de AF pode melhorar disfunção endotelial ^(3,4,30,31), inclusive em diferentes populações como infectados pelo HIV ⁽⁴¹⁾. Contudo, metanálises demonstraram que o AF não mudou o risco cardiovascular, DAC, ou mortalidade nessas populações ^(35,36). Na presente revisão, foi demonstrado que o efeito benéfico do AF sobre a função endotelial, requer estudos mais consistentes para definir tal estratégia terapêutica.

Conflito de interesses

Declaramos não haver conflitos de interesses.

Referências bibliográficas

1. Moat SJ, Doshi SN, Lang D, McDowell IF, Lewis MJ, Goodfellow J. Treatment of coronary heart disease with folic acid: is there a future? *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2004;287:H1-7.
2. Wustmann K, Klaey M, Burow A, Shaw SG, Hess OM, Allemann Y. Additive effect of homocysteine- and cholesterol-lowering therapy on endothelium-dependent vasodilation in patients with cardiovascular disease. *Cardiovascular therapeutics* 2012;30:277-86.
3. Thambyrajah J, Landray MJ, Jones HJ, McGlynn FJ, Wheeler DC, Townend JN. A randomized double-blind placebo-controlled trial of the effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid on endothelial function in patients with coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology* 2001;37:1858-63.
4. Yilmaz H, Sahin S, Sayar N, et al. Effects of folic acid and N-acetylcysteine on plasma homocysteine levels and endothelial function in patients with coronary artery disease. *Acta cardiologica* 2007;62:579-85.
5. Verhaar MC, Stroes E, Rabelink TJ. Folates and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2002;22:6-13.
6. Woo KS, Chook P, Lolin YI, Sanderson JE, Metreweli C, Celermajer DS. Folic acid improves arterial endothelial function in adults with hyperhomocystinemia. *Journal of the American College of Cardiology* 1999;34:2002-6.
7. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *Jama* 1995;274:1049-57.
8. Symons JD, Rutledge JC, Simonsen U, Pattathu RA. Vascular dysfunction produced by hyperhomocysteinemia is more severe in the presence of low folate. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2006;290:H181-91.
9. Woodman RJ, Celermajer DE, Thompson PL, Hung J. Folic acid does not improve endothelial function in healthy hyperhomocysteinaemic subjects. *Clin Sci (Lond)* 2004;106:353-8.
10. Title LM, Ur E, Giddens K, McQueen MJ, Nassar BA. Folic acid improves endothelial dysfunction in type 2 diabetes--an effect independent of homocysteine-lowering. *Vasc Med* 2006;11:101-9.
11. Das UN. Nutritional factors in the prevention and management of coronary artery disease and heart failure. *Nutrition* 2015;31:283-91.

12. Desai CK, Huang J, Lokhandwala A, Fernandez A, Riaz IB, Alpert JS. The role of vitamin supplementation in the prevention of cardiovascular disease events. *Clinical cardiology* 2014;37:576-81.
13. Krishnaswamy K, Madhavan Nair K. Importance of folate in human nutrition. *The British journal of nutrition* 2001;85 Suppl 2:S115-24.
14. Borman B. Folate, folic acid, and health. In. Wellington, N.Z.: Ministry of Health,; 1999.
15. Crider KS, Yang TP, Berry RJ, Bailey LB. Folate and DNA methylation: a review of molecular mechanisms and the evidence for folate's role. *Adv Nutr* 2012;3:21-38.
16. Bhargava S, Tyagi SC. Nutriepigenetic regulation by folate-homocysteine-methionine axis: a review. *Molecular and cellular biochemistry* 2014;387:55-61.
17. Blom HJ, Smulders Y. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *Journal of inherited metabolic disease* 2011;34:75-81.
18. Tian R, Ingwall JS. How does folic acid cure heart attacks? *Circulation* 2008;117:1772-4.
19. Eichholzer M, Tonz O, Zimmermann R. Folic acid: a public-health challenge. *Lancet* 2006;367:1352-61.
20. Institute of Medicine (U.S.). Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes., Institute of Medicine (U.S.). Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds. Dietary reference intakes. Proposed definition and plan for review of dietary antioxidants and related compounds : a report of the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and Its Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Washington, D.C.: National Academy Press; 1998.
21. Alaimo K, McDowell MA, Briefel RR, et al. Dietary intake of vitamins, minerals, and fiber of persons ages 2 months and over in the United States: Third National Health and Nutrition Examination Survey, Phase 1, 1988-91. *Advance data* 1994:1-28.
22. Raiten DJ, Fisher KD. Assessment of folate methodology used in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III, 1988-1994). *The Journal of nutrition* 1995;125:1371S-98S.
23. Otten JJ, Hellwig JP, Meyers LD. DRI, dietary reference intakes : the essential guide to nutrient requirements. Washington, D.C.: National Academies Press; 2006.

24. Santos Q, Sichieri R, Marchioni DM, Verly E, Jr. [Evaluation of the safety of different doses of folic acid supplements in women in Brazil]. *Revista de saude publica* 2013;47:952-7.
25. Goelz SE, Vogelstein B, Hamilton SR, Feinberg AP. Hypomethylation of DNA from benign and malignant human colon neoplasms. *Science* 1985;228:187-90.
26. Castro L, Goldani LZ. Iron, folate and vitamin B12 parameters in HIV-1 infected patients with anaemia in southern Brazil. *Tropical doctor* 2009;39:83-5.
27. Bogden JD, Baker H, Frank O, et al. Micronutrient status and human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1990;587:189-95.
28. Balfour L, Spaans JN, Fergusson D, et al. Micronutrient deficiency and treatment adherence in a randomized controlled trial of micronutrient supplementation in ART-naive persons with HIV. *PloS one* 2014;9:e85607.
29. Nazki FH, Sameer AS, Ganaie BA. Folate: metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. *Gene* 2014;533:11-20.
30. Mangoni AA, Sherwood RA, Swift CG, Jackson SH. Folic acid enhances endothelial function and reduces blood pressure in smokers: a randomized controlled trial. *Journal of internal medicine* 2002;252:497-503.
31. Moat SJ, Madhavan A, Taylor SY, et al. High- but not low-dose folic acid improves endothelial function in coronary artery disease. *European journal of clinical investigation* 2006;36:850-9.
32. Doshi SN, McDowell IF, Moat SJ, et al. Folic acid improves endothelial function in coronary artery disease via mechanisms largely independent of homocysteine lowering. *Circulation* 2002;105:22-6.
33. Anderson TJ, Sun YH, Hubacek J, et al. Effects of folinic acid on forearm blood flow in patients with end-stage renal disease. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2006;21:1927-33.
34. Moens AL, Claeys MJ, Wuyts FL, et al. Effect of folic acid on endothelial function following acute myocardial infarction. *The American journal of cardiology* 2007;99:476-81.
35. Miller ER, 3rd, Juraschek S, Pastor-Barriuso R, Bazzano LA, Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis of folic acid supplementation trials on risk of cardiovascular disease and risk interaction with baseline homocysteine levels. *The American journal of cardiology* 2010;106:517-27.
36. Yang HT, Lee M, Hong KS, Ovbiagele B, Saver JL. Efficacy of folic acid supplementation in cardiovascular disease prevention: an updated meta-analysis

- of randomized controlled trials. *European journal of internal medicine* 2012;23:745-54.
37. Yi X, Zhou Y, Jiang D, Li X, Guo Y, Jiang X. Efficacy of folic acid supplementation on endothelial function and plasma homocysteine concentration in coronary artery disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Experimental and therapeutic medicine* 2014;7:1100-10.
 38. Rimm EB, Stampfer MJ. Folate and cardiovascular disease: one size does not fit all. *Lancet* 2011;378:544-6.
 39. Fuchs SC, Alencastro PR, Ikeda ML, et al. Risk of coronary heart disease among HIV-infected patients: a multicenter study in Brazil. *TheScientificWorldJournal* 2013;2013:163418.
 40. Post WS, Budoff M, Kingsley L, et al. Associations between HIV infection and subclinical coronary atherosclerosis. *Annals of internal medicine* 2014;160:458-67.
 41. Grigoletti SS, Guindani G, Moraes RS, Ribeiro JP, Sprinz E. Short-term folic acid supplementation improves vascular reactivity in HIV-infected individuals: a randomized trial. *Nutrition* 2013;29:886-91.
 42. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation* 2007;115:1285-95.
 43. Eikelboom JW, Lonn E, Genest J, Jr., Hankey G, Yusuf S. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Annals of internal medicine* 1999;131:363-75.
 44. Hirsch S, Pia De la Maza M, Yanez P, et al. Hyperhomocysteinemia and endothelial function in young subjects: effects of vitamin supplementation. *Clinical cardiology* 2002;25:495-501.
 45. Dragoni S, Gori T, Di Stolfo G, Sicuro S, Forconi S, Parker JD. Folic Acid does not limit endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion: a human study. *Journal of cardiovascular pharmacology* 2005;46:494-7.

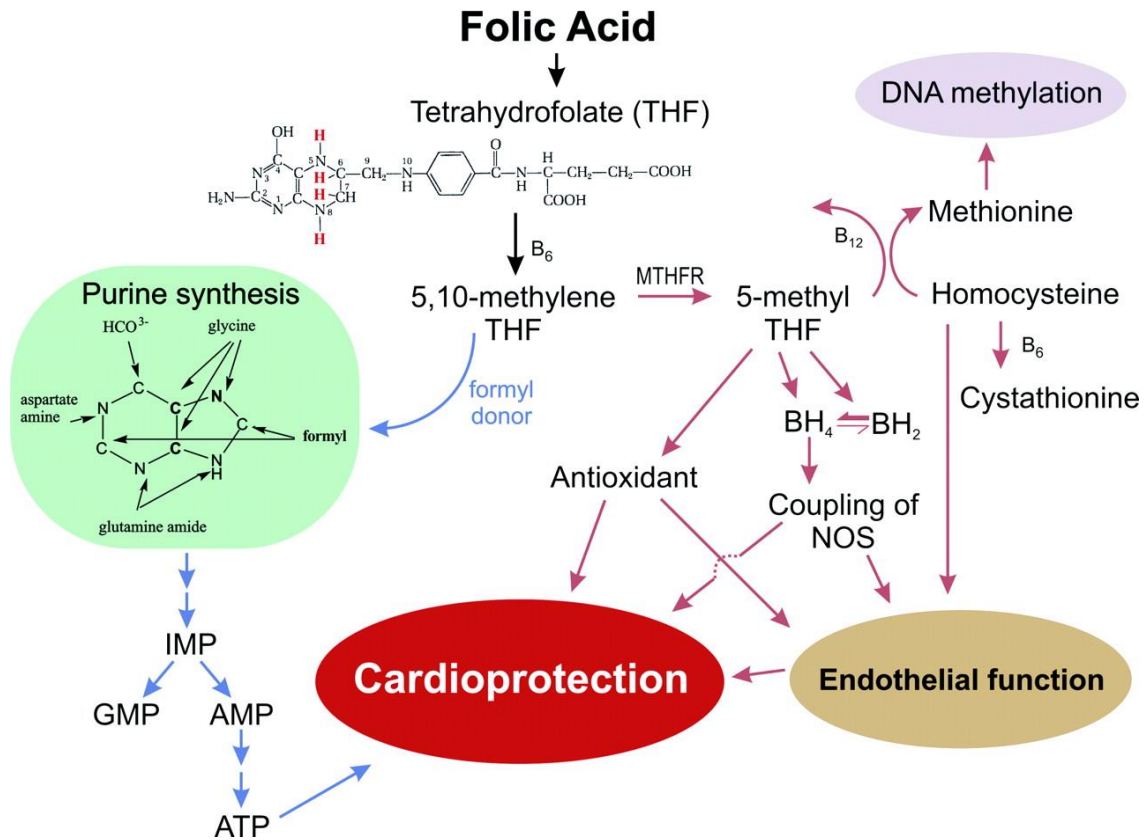


Figure 1. The role of folic acid in 1-carbon metabolism and its potential mechanisms for cardiac protection. The active metabolites of folic acid, 5,10-methylene tetrahydrofolate (THF) and 5-methyl THF serve as formyl donor and methyl donors for purine synthesis and methylation reactions, respectively. Besides converting homocysteine to methionine, 5-methyl THF improves vascular endothelial function by enhancing nitric oxide bioavailability and protects against oxidative injury. MTHFR indicates methyl tetrahydrofolate reductase; BH₄, tetrahydrobiopterin; NOS, nitric oxide synthase; B₆, vitamin B₆; and B₁₂, vitamin B₁₂ (Tian e Ingwall., 2008).

Estudo	País	N	População	Dose AF / tempo de seguimento	Método de avaliação da FMD	Resultados
Thambyrajah <i>et al</i> ⁽³⁾	Reino Unido	90	DCV	5 mg / 12 semanas	Doppler arterial	Melhora da FMD (P=0,07); Redução de Hcy (P <0,001)
Mangoni <i>et al</i> . ⁽³⁰⁾	Reino Unido	24	Fumantes saudáveis	5 mg / 4 semanas	Pletismografia	Melhora da FMD (P=0,01); Redução Hcy (P <0,001) Redução PA (P=0,01)
Hirsch <i>et al</i> ⁽⁴⁴⁾	Chile	40	Homens saudáveis, com níveis normais ou elevados de Hcy.	0,6 mg / 8 semanas	Doppler arterial	Não melhorou a FMD
Doshi <i>et al</i> ⁽³²⁾	Reino Unido	33	DCV	5 mg / 6 semanas	Doppler arterial	Melhora da FMD (P<0,001) independentemente dos níveis de Hcy
Woodman <i>et al</i> ⁽⁹⁾	Austrália	42	Homens saudáveis, com níveis normais (16) ou elevados (26) de Hcy.	5 mg / 8 semanas	Doppler arterial	Não teve efeitos sobre a FMD; Redução de Hcy em 34% (P = 0.02)
Dragoni <i>et al</i> ⁽⁴⁵⁾	Canadá	20	Homens jovens e saudáveis	10 mg / 1 semana	Doppler da artéria radial	Não teve efeitos sobre a FMD
Moat <i>et al</i> ⁽³¹⁾	Reino Unido	84	DCV Homens (n=74)	5 mg ou 0,4 mg / 6 semanas	Doppler arterial	Melhora da FMD na dose 5 mg (P < 0,001) As duas doses reduziram os níveis de Hcy (P < 0,001)
Title <i>et al</i> ⁽¹⁰⁾	Canadá	19	Diabete Mellitus	10 mg / 2 semanas	Doppler arterial	Melhora da FMD (P=0,02)
Anderson <i>et al</i> ⁽³³⁾	Canadá	34	IRC terminal	50 mg endovenosa, semanal / 12 semanas	Pletismografia	Melhora da FMD (P = 0.017) Não reduziu Hcy (P = 0,2)
Yilmaz <i>et al</i> ⁽⁴⁾	Turquia	60	DCV e hiperhomocisteinemia	5 mg ou NAC 600 mg / 8 semanas	Doppler arterial	Melhora da FMD (AF, P<0,001; NAC, P=0,03). Não houve diferença entre as intervenções (P=0,2)
Moens <i>et al</i> ⁽³⁴⁾	Bélgica	40	IAM recente (24 com hiperhomocisteinemia)	10 mg / 6 semanas	Doppler arterial	Melhora da FMD (P<0.001) independentemente dos níveis de Hcy
Wustmann ⁽²⁾	Suíça	36	DCV	1 mg ou rosuvastatina / 6 semanas	Doppler arterial	Melhora da FMD nos dois grupos Rosuvastatina (P=0,0004) Vitaminas (P=0,0002)
Grigoletti ⁽⁴¹⁾	Brasil	30	HIV	5 mg / 4 semanas	Pletismografia	Melhora da FMD (P < 0.001) Redução de Hcy (P < 0.001)

Quadro 1. Principais ECRs, controlados por placebo, que avaliaram suplementação de AF sobre a FMD. Legenda: AF: ácido fólico ou folínico; DCV, doença cardiovascular; DM, Diabete Mellitus; FMD, dilatação mediada por fluxo; Hcy, homocisteína sérica; IAM, infarto agudo do miocárdio; IRC, insuficiência renal crônica; NAC, N-acetilcisteína.

8. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nosso estudo forneceu informações relevantes, do ponto de vista epidemiológico e clínico, de uma amostra da população que faz acompanhamento em um centro de referência de serviços de atendimento público ao HIV/AIDS e Hepatite C na região sul do Brasil.

Os resultados encontrados mostram que reduções nos níveis de homocisteína, desencadeadas por suplementação de AF, ocorreram tanto entre infectados pelo HIV quanto coinfectados pelo HCV. Contudo, as variações de resposta vascular, medidas pela FMD, apresentaram um comportamento diferente entre os indivíduos, de acordo com seu status de infecção. Em indivíduos infectados pelo HIV, a administração de AF reduziu homocisteína sérica, mas não modificou FMD na artéria braquial. Em indivíduos coinfectados pelo HCV o efeito da administração de AF também reduziu a homocisteína sérica, mas apresentou tendência a piorar a disfunção endotelial.

Do ponto de vista epidemiológico, a região sul apresenta a maior taxa de detecção de infecção pelo HIV na população brasileira. Santa Maria encontra-se entre os dez municípios com maior incidência de casos de AIDS no Brasil. O acesso à TARV impactará em melhora da sobrevivência dos portadores do HIV e coinfeções. Estes indivíduos poderão estar suscetíveis à disfunção endotelial por fatores diversos.

No futuro, estudos adicionais devem ser realizados, para avaliar medidas que previnam lesão do endotélio vascular nesses indivíduos, com atenção especial ao status de coinfeção pelo HCV.

ANEXO A
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eficácia da Suplementação com Ácido Folínico sobre a Função Endotelial de Indivíduos Infectados pelo HIV e HIV-HCV: Ensaio Clínico Randomizado

Título do projeto: Eficácia da Suplementação com Ácido Folínico sobre a Função Endotelial de Indivíduos Infectados pelo HIV e HIV-HCV: Ensaio Clínico Randomizado.

Pesquisador responsável: Fábio Lopes Pedro

Instituição: Hospital Universitário de Santa Maria / Serviço de Infectologia

Pesquisadores participantes: Helen Minussi Cezimbra

Telefones para contato: 99817900 ou 55-32208538 ou 30286881

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Você precisa decidir se quer participar ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pelo estudo qualquer dúvida que você tiver. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado(a) de forma alguma.

◆ Esta pesquisa deseja avaliar a função endotelial de pacientes atendidos no ambulatório de Doenças Infecciosas do HUSM, e verificar se o tratamento preventivo com Acido Folínico melhora a reação de vasos sanguíneos. Também fazer exames de sangue (vitamina B12, ácido fólico, homocisteína sérica, colesterol total e frações, triglicerídeos, glicose de jejum) para saber se estão normais. Para conhecermos essas alterações, o paciente será examinado por médico. Através desta avaliação será possível que os pesquisadores conheçam a reação dos vasos sanguíneos, e assim possam melhorar a qualidade de vida destes pacientes.

◆ Para esse trabalho, vamos você deverá fazer as seguintes avaliações:

- Entrevistar você, para obter informações pessoais como idade, sexo, raça, as quais serão anotadas em questionário de pesquisa;
- Avaliação de peso, altura, pressão arterial e frequência cardíaca;
- Avaliação de exames laboratoriais (de sangue);

- Avaliação com Doppler (ultrassom vascular)

◆ Após esta avaliação você receberá um frasco contendo 28 capsulas, as quais podem conter ácido fólico (suplemento vitamínico) ou placebo (“farinha”). Qualquer uma dessas opções pode lhe causar mal estar e sensação de desconforto. Não existem informações que o uso de placebo possa lhe causar malefício. Por essa razão estamos buscando compreender se as pessoas que fizerem uso do ácido fólico terão algum benefício no final da pesquisa. No momento de coletar exames de sangue você poderá sentir dor no local da picada da agulha. Podem ocorrer efeitos que ainda são desconhecidos, e por isso estaremos à disposição no HUSM e por telefone.

◆ Você será solicitado a se apresentar duas vezes no período de quatro semanas em local previamente marcado, em horário agendado. Para isso receberá ressarcimento para cobrir gastos com transporte e receberá uma refeição ao término da avaliação. Além disso, você não terá nenhum prejuízo financeiro por participar da pesquisa. Ressaltamos que você não receberá ajuda financeira (dinheiro ou outros bens materiais) para participar da pesquisa.

◆ Cabe ressaltar que se trata de um estudo experimental testando a possibilidade de que o ácido fólico (vitamina) pode diminuir o risco de doença cardiovascular. No entanto, somente no final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício. Até o presente momento não dispomos de outros métodos alternativos para tal avaliação.

◆ Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. A menos que requerido por lei ou por sua solicitação, somente o pesquisador, a equipe do estudo, Comitê de Ética independente e inspetores de agências regulamentadoras do governo (quando necessário) terão acesso a suas informações para verificar as informações do estudo).

◆ O estudo tem duração de quatro semanas. Você deve saber que tem total liberdade de abandonar a pesquisa, e que concordar em participar desta pesquisa não vai causar nenhuma mudança no tratamento que já está sendo feito. Também, caso você não queira participar desta pesquisa, isso não vai mudar nada o tratamento que possa estar fazendo aqui no HUSM. Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Consentimento da participação da pessoa como sujeito

Eu, _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo _____ como sujeito. Fui suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: **“Eficácia da Suplementação com Ácido Folínico sobre a Função Endotelial de Indivíduos Infectados pelo HIV e HIV-HCV: Ensaio Clínico Randomizado”**. Eu discuti com o médico Fábio Lopes Pedro sobre a minha decisão em participar neste estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu acompanhamento/ assistência/tratamento neste Serviço.

Local e data _____

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável: _____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste sujeito de pesquisa ou representante legal para a participação neste estudo.

Santa Maria _____, de _____ de 201__

Pesquisador responsável

ANEXO B

APROVAÇÃO COMITE DE ETICA E PESQUISA - UFSM

The screenshot shows the 'Plataforma Brasil' interface. At the top, there are navigation buttons for 'Público', 'Pesquisador', and 'Alterar Meus Dados'. The user is logged in as 'Fabio Lopes Pedro - Pesquisador'. The breadcrumb trail indicates the user is viewing 'Detalhar Projeto de Pesquisa'. The main content area is titled 'DETALHAR PROJETO DE PESQUISA' and contains the following information:

Dados do Projeto de Pesquisa

Título da Pesquisa: Ensaio Clínico Randomizado, Duplo Cego, Controlado por Placebo, da Suplementação com Ácido Folinico sobre a Função Endotelial de Indivíduos Infectados pelo HIV e/ou HCV

Pesquisador: Fabio Lopes Pedro

Área Temática: Novos procedimentos terapêuticos invasivos;

Versão: 3

CAAE: 00533612.8.0000.5346

Submetido em: 20/03/2012

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Maria/ Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa

Situação: Aprovado

Localização atual do Projeto: Pesquisador Responsável

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Universidade Federal de Santa Maria/ Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa

PROJETO DE PESQUISA

Título: Ensaio Clínico Randomizado, Duplo Cego, Controlado por Placebo, da Suplementação com Ácido Folinico sobre a Função Endotelial de Indivíduos Infectados pelo HIV e/ou HCV

Pesquisador: Fabio Lopes Pedro

Versão: 1

Instituição: Universidade Federal de Santa Maria/ Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa

CAAE: 00533612.8.0000.5346

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 7101

Data da Relatoria: 27/03/2012

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

Considerações Finais a critério do CEP:


SANTA MARIA, 28 de Março de 2012

Assinado por:


Félix Alexandre Antunes Soares

ANEXO C

APROVAÇÃO DIREÇÃO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – HUSM



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA



PROTOCOLO DE REGISTRO E ACOMPANHAMENTO DE PROJETO: PESQUISA.

Nº Inscrição DEPE: 148/2011 Data: 27/12/2011

Pesquisador: Renaldo Agne Ritzel Função: Médico

CPF: 548.515.640-15 / IAPE: 4264430 Telefone: (55) 99783165

Unidade/Curso: HUSM / Serviço Infectologia E-mail: renaldo.ritzel@yahoo.com.br

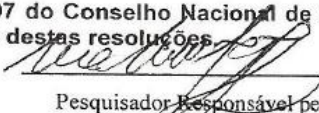
Título: Ensaio Clínico Randomizado, Duplocego, Controlado por placebo da suplementação com Ácido fólico sobre a função endotelial de indivíduos infectados HIV/HIV

FINALIDADE ACADÊMICA
 TCC () Especialização () Dissertação () Tese () Institucional () Outro ()

TIPO DE PESQUISA
 Inovações Tecnológicas em Saúde () Operacional () Clínica Básica () Políticas Públicas de Saúde ()

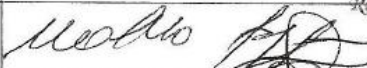
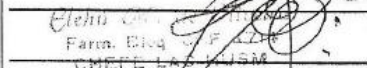
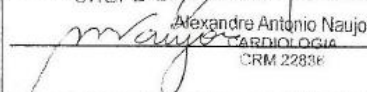
Declaro ter conhecimento das resoluções nº 196/96 e nº 251/97 do Conselho Nacional de Saúde e que este projeto não está em desacordo com nenhum dos itens destas resoluções.

Belis Lys Pedro
 CRM 28011


 Pesquisador Responsável pelo Projeto
 (Carimbo ou Siape)

Avaliação e Aprovação Setorial

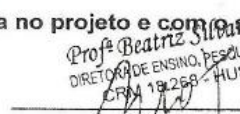
Atenção Chefia: favor ler e avaliar as condições de realização de Projeto nesse Setor

SETORES ENVOLVIDOS	PARECER (Favorável)	ASSINATURA E CARIMBO DOS RESPONSÁVEIS
<u>Ambulatório de Doenças Infecciosas</u>	<input checked="" type="checkbox"/> Sim () Não	 Renaldo Ritzel Médico CRM 20250
<u>Laboratório Análises Clínicas</u>	<input checked="" type="checkbox"/> Sim () Não	 Eliete Farm. Biol. UFESM CMEPE LA HUSM
<u>Setor de Doenças Infecciosas (Exatidão/0/10)</u>	<input checked="" type="checkbox"/> Sim () Não	 Alexandre Antonio Naujorks CARDIOLOGIA CRM 22836
	() Sim () Não	
	() Sim () Não	
	() Sim () Não	

OBS: A fonte de financiamento da pesquisa deverá estar claramente definida no projeto.
 O registro na DEPE não contempla alocação de recursos e exames, via HUSM. Caso haja custos Para o HUSM a forma de ressarcimento deverá estar definida no projeto e com o setor envolvido.

Parecer - DEPE
Pro. CEP

Data: 26/12/11


 Prof. Beatriz Silva
 DIRETOR DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO
 CRM 19.268 - HUSM/UFESM

ANEXO D**TERMO DE CONFIDENCIALIDADE****Eficácia da Suplementação com Ácido Folínico sobre a Função Endotelial de Indivíduos Infectados pelo HIV e HIV-HCV: Ensaio Clínico Randomizado**

Título do projeto: Eficácia da Suplementação com Ácido Folínico sobre a Função Endotelial de Indivíduos Infectados pelo HIV e HIV-HCV: Ensaio Clínico Randomizado.

Pesquisador responsável: Fábio Lopes Pedro

Instituição: Hospital Universitário de Santa Maria / Serviço de Infectologia

Telefones para contato: 99817900 ou 55-32208538 ou 30286881

Local da coleta de dados: Ambulatório de Doenças Infecciosas

Os pesquisadores do presente projeto se comprometem a preservar a privacidade dos pacientes cujos dados serão coletados após análises laboratoriais (exames de sangue: vitamina B12, ácido fólico, homocisteína sérica, colesterol total e frações, triglicerídeos, glicose de jejum) e imagens obtidas por Doppler (ultrassom arterial) no Hospital Universitário de Santa Maria. Concordam, igualmente, que estas informações serão utilizadas única e exclusivamente para execução do presente projeto. As informações somente poderão ser divulgadas de forma anônima, e serão mantidas na sala número vinte e seis do Ambulatório de Especialidades Clínicas do HUSM, em arquivo protegido por sistema de fechadura, por um período de cinco anos, sob a responsabilidade do Médico Pesquisador Fábio Lopes Pedro. Após este período, os dados serão destruídos. Este projeto de pesquisa foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFSM em 30/07/2012, com o número do CAAE 00533612.8.0000.5346.

Santa Maria, 28 de março de 2012.

.....
FABIO LOPES PEDRO
PESQUISADOR RESPONSÁVEL