Camila Sanson Yoshino de Paula

**Avaliação do lactato sérico para risco de disfunção mitocondrial
induzida por terapia antirretroviral materna e/ou neonatal em
pacientes expostos ao HIV durante a gestação e não infectados**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Programa de Pediatria

Orientadora: Dra. Heloísa Helena de
Sousa Marques

São Paulo

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Paula, Camila Sanson Yoshino de
Avaliação do lactato sérico para risco de
disfunção mitocondrial induzida por terapia
antirretroviral materna e/ou neonatal em pacientes
expostos ao HIV durante a gestação e não infectados
/ Camila Sanson Yoshino de Paula. -- São Paulo,
2020.

Dissertação (mestrado) -- Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Pediatria.

Orientadora: Heloísa Helena de Sousa Marques.

Descritores: 1.Exposto-HIV 2.Não infectados
3.Criança 4.Inibidores da transcriptase reversa
5.Ácido láctico 6.Doenças mitocondriais
7.Transmissão vertical de doença infecciosa

USP/FM/DBD-261/20

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Ao meu amado filho Arthur por me motivar a ser uma pessoa melhor e me ensinar todos os dias o verdadeiro significado da vida.

Ao meu marido e parceiro de vida, Douglas, por estar ao meu lado sempre, me apoiando e encorajando em todos os momentos e decisões. Sua ajuda e seu amor foram essenciais para a conclusão desse trabalho.

Aos meus pais Roberto e Marfisa por terem compartilhado dos meus sonhos e lutado para que se tornassem realidade. Por serem meus exemplos de família, amor, respeito, dedicação e honestidade. Tenho uma gratidão eterna por tudo o que fizeram e fazem por mim.

Aos meus sogros Roberto e Candida por me acolherem como filha, me apoiarem nessa jornada e me acompanhado com carinho e amor em todos os meus caminhos.

Ao meu cunhado Samuel pelo apoio e força de sempre.

Aos tios(as) e primos(as) por toda ajuda, suporte e amor.

Aos meus avós (Neusa, Paulo, Tercília e Pedro) (*in memorian*) que sempre me fizeram visualizar minhas conquistas, e a lutar por elas, desde a infância.

À minha querida e para sempre amada irmã Nathália (*in memorian*) por ser minha melhor amiga, companheira e maior incentivadora. Seu amor a DEUS, à família, amigos e à sua profissão ficarão registrados em meu coração para sempre.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à DEUS por me acompanhar e guiar em todos os momentos da minha vida e ter me abençoado com saúde, uma maravilhosa família e amigos especiais.

À minha orientadora Dra. Heloísa Helena de Sousa Marques pelo acolhimento, paciência e por compartilhar muito mais do que seu imenso conhecimento profissional. Sua persistência, dedicação e amor ao próximo sempre serão exemplos para mim.

À minha co-orientadora Giuliana Stravinskas Durigon por ser a grande idealizadora desse projeto, por ter me incentivado à pós-graduação, por me ensinar, me acalmar e estar sempre disposta e animada para ajudar. Sou extremamente grata por tudo que fez por mim.

À Dra Sylvia Costa Lima Farhat que gentilmente e com muito carinho me ajudou em um momento importante na elaboração dessa dissertação.

À bibliotecária do Instituto da Criança - FMUSP, Mariza Kazue Umetsu Yoshikawa, pelos conselhos, por estar sempre disponível para ajudar e principalmente, por tanto carinho.

À secretária da Pós-Graduação do Departamento de Pediatria, Mônica Souza, que sempre me ajudou em todos os momentos, orientando e dando suporte para a conclusão desse projeto.

Às amigas Giovanna Gavros Palandri, Nadia Litvinov e Maria Fernanda Badue Pereira pela parceria no ambiente de trabalho, pelos ensinamentos, por me ajudarem a encontrar soluções para minhas ansiedades profissionais e pessoais, por terem sido essenciais para a finalização dessa dissertação e principalmente, por compartilharem das minhas alegrias e dos meus momentos mais difíceis.

Aos médicos que foram (ou são) residentes da Infectologia Pediátrica do Instituto da Criança – FMUSP por ajudarem direta ou indiretamente nesse projeto.

Aos meus queridos amigos por deixarem os meus dias mais leves e facilitarem essa caminhada.

Aos pacientes e seus responsáveis por serem essenciais para a elaboração dessa dissertação e por serem a inspiração de a cada dia ser uma profissional melhor.

"Mestre não é quem sempre ensina, mas quem de repente aprende."

João Guimarães Rosa, em *Grande Sertão: Veredas*.

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Figuras

Lista de Quadros

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Mitocôndrias e a Produção de Adenosina Trifosfato (ATP).....	6
1.2. Lactato.....	8
1.3. Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos a Nucleosídeos/Nucleotídeos e a Toxicidade Mitochondrial.....	10
1.4. Disfunção Mitochondrial Induzida por ITRN.....	14
1.5. Revisão de Literatura.....	18
2. HIPÓTESE.....	30
3. OBJETIVOS.....	32
3.1. Objetivo Primário.....	33
3.2. Objetivos Secundários.....	33
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
6. RESULTADOS.....	43
6.1. Características Gerais.....	43
6.2. Dados dos Níveis de Lactato Sérico.....	49
6.3. Lactatos Séricos Maiores que 45mg/dL.....	59
6.4. Lactato Normal x Lactato Alterado na Primeira Amostra.....	62
7. DISCUSSÃO.....	67
8. CONCLUSÕES.....	80
9. ANEXOS.....	82
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3TC=	Lamivudina
ABC=	Abacavir
ADP=	Adenosina difosfato
ALT=	Alanina transaminase
ARV=	Antirretroviral
AST	Aspartato transaminase
ATP=	Adenosina trifosfato
ATZ/r=	Atazanavir/ritonavir
AZT=	Zidovudina
céls=	Células
CMV=	Citomegalovírus
CPK=	Creatinofosfoquinase
d4T=	Estavudina
ddl=	Didadosina
DHL=	Desidrogenase láctica
DNA=	Ácido Desoxirribonucleico
DP=	Desvio padrão
DRV/r=	Darunavir/ritonavir
EEG=	Equações de Estimação Generalizadas
EFZ=	Efavirenz
EPF=	Enquête périnatale française
FA=	Fosfatase alcalina
FAD=	Dinucleótido de flavina-adenina
GGT=	Gama glutamil transferase
HIV=	Vírus da imunodeficiência humana
HTLV=	Vírus T-linfotrópico humano
ICr–HCFMUSP	Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

IMPAACT= Maternal Pediatric Adolescent AIDS Clinical Trials Group
ITRN= Inibidores da transcriptase reversa análogos a nucleosídeos/nucleotídeos
LPV/r= Lopinavir/ritonavir
máx= Máximo
mín= Mínimo
mtDNA= DNA mitocondrial
n= Número
NADH= Dinucleótido de nicotinamida e adenina
NFV= Nelfinavir
NVP= Nevirapina
OMS= Organização Mundial de Saúde
OXPHOS= Sistema de fosforilação oxidativa
PACTG= Pediatric AIDS clinical trials group
RAL= Raltegravir
RN= Recém-nascido
RNM= Ressonância nuclear magnética
SMARTT= Surveillance Monitoring for ART Toxicities Study in HIV Uninfected Children Born to HIV Infected Women
TARV= Terapia antirretroviral
TCLE= Termo de consentimento livre e esclarecido
TDF= Tenofovir
UNAIDS= Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS
VHB= Vírus da hepatite B
VHC= Vírus da hepatite C

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Esquema representativo da estrutura da mitocôndria e o processo de produção de ATP.....	8
Figura 2-	Metabolismo do lactato.....	9
Figura 3-	Estruturas químicas dos ácidos nucleicos e dos inibidores da transcriptase reversa análogos a nucleotídeos/nucleosídeos.....	11
Figura 4-	Principal mecanismo de toxicidade mitocondrial induzida por inibidores da transcriptase reversa análogos a nucleotídeos.....	14
Figura 5-	Fluxograma para a coleta de lactato sérico e exames complementares.....	40
Figura 6-	Pacientes incluídos no estudo e os resultados da primeira coleta de lactato.....	50
Figura 7-	Evolução dos níveis de lactato dos pacientes que apresentaram lactatos > 45 mg/dL.....	62

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Valores médios de lactato e respectivos erros padrões ao longo das avaliações no primeiro ano de vida.....	52
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Classificação da disfunção mitocondrial em “sugestivo, possível e confirmado” de acordo com características clínicas, laboratoriais, histológicas e de exames de imagem.....	16
Tabela 2-	Anormalidades histológicas consistentes com doença mitocondrial.....	17
Tabela 3-	Características clínicas, laboratoriais e radiológicas dos doze pacientes com disfunção mitocondrial confirmada....	26
Tabela 4-	Resumo dos principais estudos relacionando hiperlactatemia, disfunção mitocondrial e exposição a terapia antirretroviral materna e/ou neonatal.....	28
Tabela 5-	Roteiro para acompanhamento laboratorial de crianças expostas ao HIV durante a gestação. Extraído do “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Para o Manejo da Infecção Pelo HIV em Crianças e Adolescentes– Ministério da Saúde, 2014.....	36
Tabela 6-	Roteiro para acompanhamento laboratorial de crianças expostas ao HIV durante a gestação. Extraído do “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Para o Manejo da Infecção Pelo HIV em Crianças e Adolescentes– Ministério da Saúde, 2018.....	37
Tabela 7-	Descrição das características gerais de nascimento e parto dos 36 pacientes incluídos no estudo.....	45
Tabela 8-	Descrição das características maternas durante a gestação.....	47
Tabela 9-	Descrição do lactato a cada momento de avaliação e do tempo das aferições e resultado da comparação do lactato ao longo das avaliações.....	53

Tabela 10-	Comparação do lactato entre os momentos de avaliação.	53
Tabela 11-	Correlações do lactato na 1ª avaliação com as características quantitativas avaliadas.....	55
Tabela 12-	Descrição do lactato na 1ª avaliação com cada característica qualitativa avaliada e resultado das comparações.....	56
Tabela 13-	Níveis de lactato sérico e resultados de exames complementares dos pacientes com hiperlactatemia grave.....	60
Tabela 14-	Descrição das características maternas e da gestação segundo grupos de lactato e resultado dos testes estatísticos.....	64
Tabela 15-	Descrição das características do parto e do RN segundo grupos de lactato e resultado dos testes estatísticos.....	66

RESUMO

Paula CSY. *Avaliação do lactato sérico para risco de disfunção mitocondrial induzida por terapia antirretroviral materna e/ou neonatal em pacientes expostos ao HIV durante a gestação e não infectados* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2020.

A taxa de transmissão vertical pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) apresentou uma redução importante após a instituição de estratégias profiláticas envolvendo o uso de antirretrovirais (ARV) e a contra-indicação da amamentação. Embora o uso de antirretrovirais no tratamento materno durante a gestação e na profilaxia neonatal seja essencial para a redução da taxa de transmissão vertical, sua segurança ainda permanece controversa. Entre os diversos efeitos já estudados, a disfunção mitocondrial induzida pelos inibidores da transcriptase reversa análogos a nucleotídeos (ITRN) tem apresentado importante destaque nos últimos anos. A principal hipótese para a toxicidade mitocondrial induzida pelo ITRN é a ação dessa classe de ARV na gama-DNA-polimerase, uma enzima essencial para a replicação do DNA mitocondrial (mtDNA), levando a depleção ou mutação do mtDNA, com diminuição da produção de adenosina trifosfato (ATP), aumento de radicais reativos de oxigênio, consequente dano tecidual e aumento de lactato sérico. Estudos prévios demonstraram que a maioria dos bebês expostos ao HIV durante a gestação não infectados investigados para disfunção mitocondrial é assintomática e podem apresentar aumento de lactato sérico. Dados sobre o nível sérico de lactato e o risco de toxicidade mitocondrial em crianças brasileiras expostas ao HIV e ARV materno e neonatal são escassos. O objetivo desse estudo é descrever a prevalência de hiperlactatemia nesse grupo de pacientes, avaliar a presença de manifestações clínicas e identificar fatores de risco durante a gestação que possam estar relacionados ao aumento de lactato no período pós-natal. Foi realizado um estudo prospectivo com coleta de três amostras de lactato sérico (com um mês, quatro meses e doze meses de idade). Lactatos > 19 mg/dL foram considerados alterados e valores > 45mg/dL considerados de risco para disfunção mitocondrial grave. Os pacientes foram acompanhados e avaliados clinicamente no ambulatório de Infectologia Pediátrica do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. Foram incluídos 36 pacientes no estudo e coletadas 87 amostras de lactato. Trinta e sete amostras (42,5%) foram

consideradas alteradas e a maioria (63,9%) nas primeiras semanas de vida dos pacientes. Lactatos > 45 mg/dL foram encontrados em nove amostras coletadas de oito pacientes, sendo sete alterações observadas na primeira coleta do exame e nenhuma na terceira amostra. Durante o período do estudo, observou-se diminuição da prevalência de lactatos alterados (63,9% vs 34,4% vs 15,8%). Houve também redução estatisticamente significativa na média de lactato durante o acompanhamento ($29,4 \pm 15,7$ mg/dL vs $18,3 \pm 3,9$ mg/dL vs $16,3 \pm 4,3$ mg/dL; $p < 0,001$), principalmente entre primeira e segunda amostra e primeira e terceira amostra (diferença média: 10,87 mg/dL e 13,58 mg/dL, respectivamente). Os bebês cujo as mães fizeram uso de esquema antirretroviral contendo dois ITRN associado a Nevirapina ou Efavirenz e aqueles que receberam como profilaxia neonatal Zidovudina e Nevirapina, apresentaram lactatos > 19mg/dL em pelo menos uma das amostras coletadas durante o seguimento ($p = 0,441$). Além disso, as crianças expostas a Abacavir durante a gestação apresentaram médias de lactato maiores comparadas àquelas que não foram expostas a esse ARV (46,5 mg/dL vs 28,4 mg/dL; $p = 0,114$). Nenhum dos pacientes acompanhados apresentou manifestação clínica durante o estudo. Como conclusão, este estudo demonstrou que os pacientes expostos ao HIV e a ARV durante a gestação e período neonatal podem apresentar aumento de lactato sérico nas primeiras semanas de vida. Esses pacientes não apresentaram nenhuma manifestação clínica e todos evoluíram com resolução espontânea da hiperlactatemia durante o seguimento. Esses resultados sugerem que não há benefício na coleta de lactato como triagem de disfunção mitocondrial em crianças expostas ao HIV e terapia antirretroviral materna e neonatal.

Descritores: Exposto-HIV; Não infectados; Criança; Inibidores da transcriptase reversa; Ácido láctico; Doenças mitocondriais; Transmissão vertical de doença infecciosa.

ABSTRACT

Paula CSY. *Evaluation of serum lactate for the risk for mitochondrial dysfunction induced by maternal and/or neonatal antiretroviral therapy in uninfected infants exposed to HIV during pregnancy* [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2020.

The rate of vertical transmission by the human immunodeficiency virus (HIV) was significantly reduced after the introduction of prophylactic strategies involving the use of antiretroviral drugs (ART) and contraindication to breastfeeding. Although the use of antiretrovirals in maternal treatment during pregnancy and in the neonatal prophylaxis is essential to reduce the rate of vertical transmission, safety remains controversial. Among the effects studied previously, mitochondrial dysfunction induced by nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors (NRTI) presented an important highlight in the latest years. The main hypothesis to mitochondrial toxicity induced by NRTI is the action of this ART class in gamma-DNA-polymerase, a crucial enzyme to replication of mitochondrial DNA (mtDNA), leading to depletion or mutation of mtDNA, with reduction of adenosine triphosphate, increase of reactive oxygen radicals, consequential tissue damage and production of serum lactate. Previous studies demonstrated that most uninfected infants exposed to HIV during the pregnancy that were investigated for mitochondrial dysfunction were asymptomatic and may have had serum lactate increased. Data about serum lactate and risk of mitochondrial toxicity in Brazilian infants exposed to HIV and maternal and neonatal ART are scarce. This study aims describe the prevalence of hyperlactatemia in these patients, evaluate clinical manifestations and identify risk factors occurred during pregnancy that could be associated with the increased lactate in the postnatal period. A prospective study was performed, and it was collected three samples of serum lactate (one month, four months and twelve months of age). Lactates $> 19\text{mg/dL}$ were considered altered and levels $> 45\text{ mg/dL}$ were considered of risk of severe mitochondrial dysfunction. The patients were followed and clinically evaluated at the pediatric infectious disease clinic of Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. Thirty-six patients were included in the study and 87 samples were collected. Thirty-seven samples (42.5%) were considered altered and the majority (63.9%) occurred in the patients' first weeks of life. Lactates $> 45\text{ mg/dL}$ were observed in nine samples of eight patients. Seven of these alterations occurred in the first sample and none in

the third sample. During the study period, there was reduction in prevalence of altered lactates (63.9% vs 34.4% vs 15.8%). There was also a statistically significant reduction in the mean lactate value during follow-up (29.4 ± 15.7 mg/dL vs 18.3 ± 3.9 mg/dL vs 16.3 ± 4.3 mg/dL; $p < 0.001$), especially between first and second and first and third samples (mean difference: 10.87 mg/dL and 13.58 mg/dL, respectively). Babies born to mothers that received an ARV regimen with two NTRI and Nevirapine or Efavirenz and those neonates that used Zidovudine plus Nevirapine as prophylaxis, presented lactate levels > 19 mg/dL in at least one of the samples collected during the follow-up period ($p=0.441$). Moreover, children exposed to Abacavir during pregnancy presented mean lactate levels higher than those who were not exposed to this ART (46.5 mg/dL vs 28.4 mg/dL; $p=0.114$). None of the patients in the study had clinical manifestations. In conclusion, this study demonstrated that uninfected patients exposed to HIV and ART during pregnancy or neonatal period may have an increase in serum lactate in the first weeks of life. These patients did not have clinical manifestations and all of them evolved with spontaneous resolution of the hyperlactatemia. These findings suggest that there is no benefit in collecting serum lactate as screening for mitochondrial dysfunction in uninfected infants exposed to HIV and maternal or neonatal ART.

Descriptors: Exposed-HIV; uninfected; Child; Reverse transcriptase inhibitors; Lactic acid; Mitochondrial diseases; Infectious disease transmission, vertical.

1. INTRODUÇÃO

Os vírus da imunodeficiência humana tipos 1 e 2 (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (HIV-1 e HIV-2) pertencem a família *Retroviridae*, gênero *Lentivirus*.

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), demonstram que, em 2018, havia 37,9 milhões de pessoas vivendo com HIV em todo o mundo, 770.000 óbitos relacionados ao HIV/AIDS e 1,7 milhão de novos casos (0,24 casos novos/1000 habitantes). Em relação a faixa etária pediátrica, 1,7 milhão de crianças menores de 15 anos tinham o diagnóstico de infecção por HIV, com uma estimativa de 160.000 novos casos e 100.000 óbitos nesse mesmo ano¹.

Dados brasileiros de 2018 estimam que 900.000 pessoas apresentavam infecção por HIV no país, com detecção de 43.941 casos novos (17,8 casos/100.000 habitantes) e 10.980 óbitos no mesmo período. Em crianças menores de 15 anos, foram notificados 218 casos novos e há uma estimativa de que existam 13.000 crianças menores de 15 anos vivendo com HIV no Brasil^{2,3}.

A transmissão do HIV ocorre por via sexual, via vertical, contato com agulhas ou outros materiais perfurocortantes contaminados e transfusão sanguínea, sendo a transmissão mãe-filho (gestação, peri-parto e amamentação) a principal via de infecção em crianças.

O risco de transmissão, na ausência de terapia antirretroviral materna e/ou profilática no recém-nascido, varia de acordo com a presença ou ausência de aleitamento materno. Pacientes não-amamentados têm risco de infecção de 15 a 25%, sendo que 65 a 75% das infecções ocorrem no período de peri-parto. Pacientes amamentados têm risco de infecção de 25 a 40%, com 35 a

50% das infecções ocorrendo no período peri-parto e 25 a 45% durante a amamentação⁴⁻⁶.

O maior fator de risco para a transmissão é a carga viral materna e, em relação à amamentação, o tempo de duração da amamentação também é um fator importante, com um risco aparentemente maior durante a fase de colostro devido a quantidade de células imunes maternas^{5,7,8}.

Os primeiros casos pediátricos de infecção por HIV foram observados em 1984 e, a partir desse ano, além de o número de crianças infectadas aumentar consideravelmente, foi observada também altas taxas de letalidade (mesmo com o uso da monoterapia disponível para tratamento na época). Nesse cenário, estudos foram realizados com o objetivo de criar protocolos para a prevenção da transmissão mãe-filho. Dentre essas pesquisas, é importante ressaltar um ensaio clínico placebo-controle, randomizado, duplo-cego realizado em 1994 pelo Pediatric AIDS Clinical Trials Group (protocolo ACTG076) que demonstrou que o uso de Zidovudina (AZT) por via endovenosa para a gestante durante o trabalho de parto e via oral para o recém-nascido no período neonatal diminuía em dois terços o risco de transmissão do HIV⁹.

Além disso, em 1996, foi demonstrado que o uso de terapia antirretroviral com três drogas para adultos infectados era efetivo para a diminuir a replicação do HIV¹⁰ e, portanto, também era benéfico para a redução da transmissão vertical.

A partir desse momento, surgiram orientações e protocolos para diminuir a taxa de transmissão vertical. Observou-se, então, uma redução importante (para menos de 1%) em países desenvolvidos após serem instituídas

estratégias profiláticas envolvendo o uso de antirretrovirais, parto cesárea eletivo quando indicado e contra-indicação da amamentação^{11,12}.

Dados globais de 2017 do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS (UNAIDS), demonstraram que o acesso aos antirretrovirais pelas gestantes aumentou de 44% em 2010 para 82% em 2018 e que a taxa de infecção em crianças reduziu de 280.000 para 160.000 novos casos (queda de 41%) nesse mesmo período¹³. Dados brasileiros divulgados pelo Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/AIDS e das Hepatites Virais do Ministério da Saúde, demonstram aumento da taxa de detecção de HIV em gestantes de 2,1 casos/1000 nascidos vivos em 2008 para 2,9 casos/1000 nascidos vivos em 2018, com redução da taxa de detecção do HIV em menores de 5 anos de 3,6 casos/1000.000 habitantes para 1,9 casos/1000.000 habitantes no mesmo período².

O Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo Clínico da Infecção pelo HIV em Crianças e Adolescentes publicado em 2018 pelo Ministério da Saúde do Brasil recomenda além do tratamento da gestante infectada pelo HIV, a administração intravenosa de AZT durante o trabalho de parto em casos de carga viral materna detectável após 34 semanas de idade gestacional e/ou adesão irregular a terapia antirretroviral materna e AZT oral para as crianças durante as 4 primeiras semanas de vida. Os filhos de mães que preencham qualquer um dos seguintes critérios: histórico de má adesão ou que não fizeram uso de terapia antirretroviral durante a gestação, mães com carga viral desconhecida ou superior 1000 cópias/ml no terceiro trimestre, outra

infecção sexualmente transmissível materna adquirida ou identificada durante a gestação ou parto, devem receber também três doses de Nevirapina (NVP)¹⁴.

Apesar da taxa de transmissão vertical no mundo ter apresentado redução^{11,12,15}, a segurança da terapia antirretroviral (TARV) materna no recém-nascido ainda permanece controversa. Efeitos como parto prematuro ou baixo peso ao nascimento¹⁶⁻¹⁸, teratogenicidade^{17,18}, supressão de medula óssea (anemia e neutropenia)¹⁷, carcinogenicidade^{17,19}, disfunção mitocondrial (incluindo alterações em sistema nervoso central, cardiomiopatias e hepatites)^{17,18}, alterações de crescimento ou densidade mineral óssea^{17,20,21} e alterações no sistema imune²² são descritos em diversos estudos.

Em relação à disfunção mitocondrial, muitos autores tem demonstrado uma possível relação dos inibidores da transcriptase reversa análogos a nucleosídeos/nucleotídeos (ITRN) com esse efeito adverso²³⁻²⁷. Essa associação é especialmente importante de ser estudada, já que essa é a principal classe de antirretrovirais utilizado para o tratamento da infecção pelo HIV atualmente.

Para entender melhor a relação entre os ITRN e a disfunção mitocondrial, é importante conhecer princípios básicos sobre o funcionamento normal da mitocôndria, o metabolismo do lactato e o mecanismo de ação dos ITRN. Esses conceitos serão explicados nos próximos tópicos.

1.1. Mitocôndrias e a Produção de Adenosina Trifosfato (ATP)

As mitocôndrias são organelas presentes em todas as células (com exceção dos eritrócitos). Sua estrutura é formada por uma membrana externa (com permeabilidade para alguns íons e pequenas moléculas), uma membrana interna (onde são encontradas as proteínas da cadeia respiratória), o espaço intermembranas e a matriz mitocondrial (onde ocorrem as reações do metabolismo respiratório). Possuem seu próprio DNA (mtDNA – DNA mitocondrial) que tem a função de codificar uma parte das proteínas importantes para o seu próprio funcionamento. São essenciais no metabolismo celular (fosforilação oxidativa, oxidação dos ácidos graxos, ciclo de Krebs, ciclo da ureia, gliconeogênese e cetogênese) e têm um papel muito importante na termogênese, nos metabolismos de aminoácido e lipídico, na biossíntese de proteínas ferro-enxofre, na homeostase do cálcio e apoptose^{28,29}.

A cadeia respiratória é formada por 5 complexos enzimáticos:

- Complexo I: NADH desidrogenase-ubiquinona oxidoreductase
- Complexo II: succinato desidrogenase-ubiquinona oxidoreductase
- Complexo III: ubiquinona -citocromo c oxidoreductase
- Complexo IV: citocromo c oxidase.
- Complexo V: ATP sintase

A fosforilação oxidativa é iniciada com o transporte de ácidos graxos livres e carboidratos (na forma de piruvato) para a matriz mitocondrial, onde esses substratos são metabolizados a acetil-CoA. Já no ciclo de Krebs, a acetil-CoA sofre oxidação com formação de dióxido de carbono e água. Esse processo libera íons de hidrogênio (H⁺) que reduzem NAD em NADH e FAD em FADH₂.

Tanto o NADH quanto o FADH_2 irão fornecer íons H^+ para a cadeia respiratória^{29,30}.

Na cadeia respiratória ocorre transferência de elétrons entre os complexos I-IV e transferência de prótons entre os complexos I, III e IV. A energia liberada pelos elétrons leva a transferência dos prótons da matriz mitocondrial para o espaço entre as membranas interna e externa da mitocôndria, gerando um acúmulo desses íons H^+ nessa região e, conseqüentemente, uma energia de difusão conhecida como força protomotiva. O retorno desses íons para a matriz mitocondrial é realizado através de um canal de prótons no complexo V (ATP sintase), gerando uma energia mecânica que promove a adição de um fosfato à adenosina difosfato, produzindo assim ATP^{30} (Figura 1).

Os elétrons gerados pelo processo de fosforilação se ligam ao oxigênio formando íons superóxidos (espécies altamente reativas) e estes, são convertidos em outras espécies reativas como íons hidroxila e H_2O_2 . Apesar de estudos recentes demonstrarem que esses radicais livres/espécies reativas de oxigênio (ROS) produzidos por esse processo possam ter um papel importante na sinalização fisiológica, os ROS podem causar peroxidação lipídica e conseqüentemente danos às membranas celulares e ao DNA^{29,30}.

Figura 1- Esquema representativo da estrutura da mitocôndria e o processo de produção de ATP. Esquema extraído de Baynes e cols³¹.

1.2. Lactato

O lactato (ou 2-hidroxipropanoato) é um ácido hidroxicarboxílico. Sua produção ocorre a partir de piruvato, que por sua vez é originado principalmente a partir do metabolismo de glicose pela via glicolítica e em menor quantidade pela desaminação da alanina³².

É produzido ou removido a partir de uma reação de oxido-redução catalisada pela lactato desidrogenase (DHL). Nessa reação de duas vias, em uma das direções há a produção de lactato a partir de piruvato, enquanto o

NADH é oxidado a NAD⁺. Na via oposta, o lactato é oxidado em piruvato e o NAD⁺ é reduzido a NADH, conforme observado na Figura 2^{32,33}.

Figura 2- Metabolismo do lactato. Esquema extraído de Adeva-Andany M e cols³³

A elevação da concentração de lactato pode ser resultado da diminuição de sua utilização ou do aumento de sua produção (por produção elevada de piruvato ou diminuição da atividade do DHL ou alteração do estado redox da célula favorecendo a conversão de piruvato para lactato)³³. Assim, uma alteração no funcionamento normal da mitocôndria pode levar a desregulação

da razão NAD^+ e NADH com aumento da concentração de NADH e aumento da produção de lactato.

1.3. Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos a Nucleosídeos/Nucleotídeos e a Toxicidade Mitocondrial

Os ITRN são drogas derivadas das bases nitrogenadas adenina, citosina, guanina e timina, cujo mecanismo de ação se inicia após a droga ser transportada para o interior da mitocôndria e sofrer um processo de fosforilação pela timidina-quinase-2 e desoxiguanosina-quinase, gerando derivados trifosfatos (forma ativa). A principal diferença entre as estruturas químicas (Figura 3) dessa classe de antirretrovirais e as bases nitrogenadas é encontrada no grupo 3'-OH da desoxirribose, região que se une ao grupo fosfato ligado à hidroxila do carbono-5 da pentose do próximo nucleotídeo. Essa alteração no grupo 3'-OH dos ITRN (ou no grupo azida no caso do AZT), impede de que a enzima transcriptase reversa do HIV (uma DNA polimerase) promova a ligação entre os ácidos nucleicos subjacentes. Portanto, os ITRN agem inibindo a transcriptase reversa competindo com os ácidos nucleicos endógenos e interrompendo o alongamento do DNA pró-viral, o que impede assim a replicação viral³⁴⁻³⁶.

Figura 3- Estruturas químicas dos ácidos nucleicos e dos inibidores da transcriptase reversa análogos a nucleotídeos/nucleosídeos. Extraído de Leung GPH e cols³⁴.

Entretanto, essas drogas não são seletivas e específicas a transcriptase reversa, podendo também inibir as DNA polimerases humanas^{34–37}.

Existem cinco DNA polimerases humanas: α , β , ϵ , ξ e γ . A gama-DNA-polimerase é localizada na mitocôndria e responsável pela replicação do DNA mitocondrial humano. As demais DNA polimerases são encontradas no núcleo celular e enquanto a α -DNA-polimerase e ξ -DNA-polimerase são responsáveis pela transcrição do DNA nuclear, a β -DNA-polimerase e a ϵ -DNA-polimerase agem no reparo do DNA. Embora os ITRN possam interferir nas cinco DNA

polimerases, há maior afinidade à γ -DNA-polimerase, seguida das DNA polimerases β , α e ξ respectivamente³⁵.

Há algumas hipóteses para a toxicidade mitocondrial induzida pelos ITRNs. A mais amplamente aceita é a de que a inibição da gama-DNA-polimerase pode levar a depleção do mtDNA, promovendo diminuição das subunidades proteicas do sistema de fosforilação oxidativa (OXPHOS) codificadas pelo mtDNA e resultando em diminuição da produção de ATP com aumento de radicais reativos de oxigênio e consequentemente dano tecidual³⁴⁻³⁶. Outra hipótese semelhante é a de que a inibição da gama-DNA-polimerase também pode levar à inativação de sua atividade de exonuclease, o que gera mutações do mtDNA e semelhantemente a depleção de mtDNA, levar a alterações do sistema OXPHOS³⁴ (Figura 4).

A depleção do mtDNA já foi demonstrada tanto em estudos com modelos celulares e animais expostos aos ITRN³⁸⁻⁴⁰ quanto em tecido adiposo subcutâneo⁴¹, músculo esquelético⁴², sistema nervoso central⁴³, fígado⁴⁴ e placenta⁴⁵ de pacientes infectados com HIV em tratamento com ITRN.

Segundo estudos in vitro realizados com ITRN aprovados na época para o tratamento do HIV, o potencial de inibição da gama-DNA-polimerase varia de acordo com o antirretroviral utilizado, seguindo a seguinte sequência Zalcitabina >> Didanosina > Estavudina > Zidovudina >>>> Tenofovir, Lamivudina, Emcitabina e Abacavir^{34,46,47}. Algumas outras pesquisas também in vitro com medicações utilizadas antigamente para tratamento da infecção por hepatite B, também demonstraram um potencial de inibição maior para drogas como Zalcitabina, Didanosina, Estavudina e Zidovudina quando comparadas com Lamivudina, Adefovir, Entecavir, Telbivudina e Tenofovir⁴⁸⁻⁵⁰.

Entretanto, é necessário cuidado ao relacionar essas informações de pesquisas *in vitro* com a prática clínica, já que a capacidade de fosforilação varia de acordo com cada tipo de célula (dependendo também do estado de repouso ou atividade celular). Portanto, estudos realizados em determinada célula de um tecido pode não corresponder com células de outra região. Além disso, também há uma diferença na eficiência de fosforilação entre os ITRN. Um bom exemplo é que a forma ativa da Didanosina é um potente inibidor da gama-DNA-polimerase, porém apenas 3% desse antirretroviral é convertido nessa forma e, provavelmente, por esse motivo tem menor toxicidade *in vivo* do que o descrito *in vitro*³⁶.

Apesar de a produção exacerbada de radicais livres de oxigênio ser explicada principalmente pela depleção ou mutação do mtDNA, existem também hipóteses de que o AZT pode agir diretamente em algumas etapas da cadeia respiratória (estresse oxidativo). Segundo alguns estudos *in vitro* e em animais, o AZT pode levar à diminuição do complexo IV do sistema OXPHO⁵¹, inibição do transporte de fosfatos com estímulo da produção de superóxido⁵², competição com o dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADH) no complexo I⁵³ e redução da atividade do citocromo c redutase⁵⁴, levando ao aumento da produção de radicais livres de oxigênio, mesmo na ausência de depleção do mtDNA.

Além disso, outras explicações para a disfunção mitocondrial decorrente do uso de ITRN seriam: indução de apoptose de mitocôndrias por estresse oxidativo³⁴ e interferência na produção de energia como a inibição pelo AZT da enzima adenilato quinase (envolvida no processo de produção de ATP)⁵⁵ ou dos antiportes ADP/ATP⁵⁶.

Figura 4- Principal mecanismo de toxicidade mitocondrial induzida por inibidores da transcriptase reversa análogos a nucleotídeos^{34–36}.

1.4. Disfunção Mitocondrial Induzida por ITRN

A maioria das doenças mitocondriais com início na infância tem como origem mutações no mtDNA ou no DNA nuclear. Embora nem sempre sejam fatais, geralmente são graves. Os sintomas e sinais clínicos são inespecíficos (como encefalopatia, fraqueza generalizada, disautonomia, hipotonia, “failure to thrive”, vômitos, convulsões, atraso do desenvolvimento neuropsicomotor, cardiomiopatia) e podem, em conjunto, indicar determinadas síndromes²⁸.

Clinicamente, a disfunção mitocondrial induzida por ITRN apresenta quadros menos graves, sendo a maioria dos casos assintomáticos. Entretanto,

podem cursar também com quadros oligossintomáticos ou com disfunções sistêmicas graves. Os quadros sintomáticos graves incluem principalmente manifestações musculares (com cardiomiopatia hipertrófica, miopatias) e neurológicas (com convulsões, atraso do desenvolvimento neuropsicomotor, neuropatia periférica), além de sinais/sintomas de acidose láctica (iniciados com náusea/vômitos e dor abdominal evoluindo com hiperventilação associada a acidose grave, falência hepática e arritmia). Outras manifestações são: surdez neurossensorial, disfunção tubular renal aguda, diabetes melitus, anemia, pancitopenia, pancreatite/falência pancreática³⁶.

Como a maioria dos casos são assintomáticos, a presença de alterações de exames laboratoriais como a dosagem sérica de lactato, alanina transaminase (ALT), aspartato transaminase (AST), lipase, creatinofosfoquinase (CPK) e desidrogenase láctica (DHL) podem sugerir e ajudar no diagnóstico de disfunção mitocondrial. A ressonância magnética do encéfalo (com hipersinal difuso na substância branca supratentorial ou no tronco cerebral) pode também ser útil e complementar a investigação clínica/laboratorial. O diagnóstico confirmatório, entretanto, é complexo e baseado em biópsia (geralmente muscular pela maior facilidade de realização)⁵⁷. Atualmente, pode-se ainda utilizar o estudo genético para detectar mutações do mtDNA, porém como as mutações genéticas podem levar a diferentes fenótipos e as síndromes clínicas podem ter diferentes mutações, essa ferramenta só é utilizada em situações onde as alterações clínicas, laboratoriais e de imagem sugestionem alguma síndrome já descrita²⁸. Devido a essa dificuldade de diagnóstico, a disfunção mitocondrial é classificada em “sugestivo, possível e confirmado” de acordo com

características clínicas, laboratoriais, histológicas e de exames de imagem (Tabelas 1 e 2)⁵⁷.

Tabela 1- Classificação da disfunção mitocondrial em “sugestivo, possível e confirmado” de acordo com características clínicas, laboratoriais, histológicas e de exames de imagem. Extraída de Benhammou V e cols⁵⁷.

Diagnóstico de disfunção mitocondrial congênita

- “Sugestivo”:

- ✓ Quadro clínico compatível
- ✓ Alterações persistentes de ALT, AST, DHL, CPK, lipase
- ✓ Ressonância magnética do encéfalo com hipersinal em substância branca

- “Possível”:

- ✓ Quadro clínico compatível
- ✓ Hiperlactatemia persistente
- ✓ Vários critérios menores de anormalidades histológicas mitocondriais (Tabela 2)

- “Confirmado”:

- ✓ Déficit importante em uma ou em vários componentes da cadeia respiratória (linfócito, fígado ou músculo) e/ou achados histológicos característicos (Tabela 2)

AST: aspartato transaminase ALT: alanina transaminase CPK: creatinofosfoquinase
DHL: desidrogenase láctica

Tabela 2- Anormalidades histológicas consistentes com doença mitocondrial.
Extraída de Benhammou V e cols⁵⁷.

-
- Doença mitocondrial típica:
 - ✓ Histoenzimologia: “ragged red fibers” (fibras rotas vermelhas)
 - ✓ Microscopia eletrônica: acúmulo de mitocôndrias anormais no espaço subsarcolêmico
 - Lesões menores:
 - ✓ Histoenzimologia: Rimmed-red fibers (“fibras avermelhadas”)
 - ✓ Histoenzimologia: excesso de lipídeos
 - ✓ Histoenzimologia: fibras COX-negativas
 - ✓ Microscopia eletrônica: acúmulo de mitocôndrias
 - ✓ Microscopia eletrônica: inclusões mitocondriais (denso, paracristalino)
 - ✓ Fibras nervosas musculares desmielinizadas
-

Apesar dessa classificação ter o objetivo de ajudar no diagnóstico de disfunção mitocondrial, é importante ressaltar que dificuldades técnicas da biópsia podem descartar erroneamente o diagnóstico, já que algumas alterações histológicas clássicas (como “red ragger fiber”) são menos comuns em crianças e a maioria das biópsias são realizadas no músculo (que não é o principal local onde a doença se expressa clinicamente e, portanto, uma biópsia normal não afasta o diagnóstico de disfunção mitocondrial)⁵⁷.

1.5. Revisão de Literatura

Os primeiros estudos sobre a possível relação entre TARV materna e/ou neonatal e disfunção mitocondrial foram publicados na década de 90, após observações em estudos animais expostos ao AZT⁵⁸. Alguns estudos realizados pelo Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group em crianças expostas ao AZT durante a gestação, parto e período neonatal já haviam sido publicados demonstrando anemia moderada transitória, porém pouco se conhecia sobre disfunção mitocondrial induzida pelos ITRN⁹.

Scalfaro e cols⁵⁹ relataram o primeiro caso de acidose láctica em uma criança ainda sob terapia com AZT. Esse artigo, publicado em 1998, relata o caso de uma criança do sexo feminino, cuja mãe adolescente fez o diagnóstico de infecção pelo HIV na 24ª semana de gestação. Conforme protocolo da época, a mãe recebeu AZT a partir do momento do diagnóstico, AZT por via endovenosa durante o trabalho de parto e a criança iniciou AZT com programação de 6 semanas de profilaxia durante o período neonatal. Ao nascimento (por parto cesárea, com idade gestacional de 35 semanas), a paciente necessitou de intubação orotraqueal por 48 horas devido a persistência do canal arterial. Após essa intercorrência, permaneceu estável, porém no 9º dia de vida, apresentou desconforto respiratório súbito (com necessidade de ventilação mecânica novamente), hepatomegalia e petéquias em abdome. Exames laboratoriais realizados nesse momento demonstraram acidose metabólica compensada por hiperventilação, aumento de lactato (126 mg/dL), aumento de AST em 2 vezes o valor de referência e um discreto aumento de ureia. Optado por suspensão do AZT e paciente evoluiu com

melhora clínica/laboratorial (redução dos valores de lactato para 23 mg/dL em 6 horas e 18 mg/dL em 48h, valores de AST normais em 14 horas, além de resolução da acidose metabólica em 24h)⁵⁹.

Após a publicação desse relato de caso, surgiram diversas pesquisas em relação a uma possível disfunção mitocondrial nesses pacientes expostos à terapia antirretroviral profilática. Grandes coortes de pacientes pediátricos expostos ao HIV e a terapia antirretroviral materna/neonatal foram iniciados com o objetivo de avaliar os riscos das profilaxias para a prevenção da transmissão mãe-filho. Entre esses grupos, encontram-se a coorte nacional francesa (*Enquête Périnatale Française*, EPF), o *Surveillance Monitoring for ART Toxicities Study in HIV Uninfected Children Born to HIV Infected Women* (SMARTT), o *Pediatric AIDS Clinical Trials Group* (PACTG) que posteriormente se fundiu ao *Maternal Pediatric Adolescent AIDS Clinical Trials Group* (IMPAACT), entre outros.

Blanche e cols⁶⁰ (pesquisadores da coorte nacional francesa), em 1999, descreveram oito pacientes com disfunção mitocondrial (em um total de 1754 crianças expostas à TARV materna durante a gestação). Destas oito crianças, duas foram a óbito por graves manifestações neurológicas, três apresentaram manifestações moderadas como convulsões, miocardiopatia (resolução completa aos 4 anos de idade), miopatias, paresias e disfunção cognitiva, um paciente apresentou um episódio de hipotonia com apneia (resolução completa) e outras duas com hiperlactatemia assintomáticas. Cinco pacientes mantiveram níveis de lactato persistentemente elevados e apenas dois entre os oito pacientes não apresentavam alteração em ressonância magnética de encéfalo. Todas as crianças nasceram por parto normal e apenas uma delas foi

prematura (idade gestacional de 34 semanas). Nenhuma mãe era usuária de drogas, uma apresentava coinfeção com hepatite C e apenas uma fazia uso de outra medicação (sulfametoxazol-trimetoprim) que não a terapia antirretroviral. A profilaxia neonatal foi realizada com AZT e/ou Lamivudina por um período de 6 semanas em quatro pacientes. Nas outras quatro crianças, a terapia foi suspensa devido a intolerância hematológica ou bioquímica. O tempo médio de exposição pré-natal e pós-natal ao AZT e/ou Lamivudina foi de 17,2 semanas (0-40 semanas) e 5,2 semanas (2-6 semanas), respectivamente⁶⁰.

Em 2003, Barret e cols em uma nova publicação descreveram mais 4 casos com manifestações clínicas graves, sendo que três apresentavam alterações no estudo enzimático da cadeia respiratória e/ou achados histopatológicos compatíveis com disfunção mitocondrial confirmada, com uma taxa de incidência aos 18 meses de idade de 0,26%. Nenhuma das crianças foi exposta a drogas ilícitas durante a gestação. Também não houve nenhum caso de sofrimento fetal agudo ou infecção congênita (por toxoplasmose ou citomegalovírus). Em sete dos 12 casos relatados, havia hiperlactatemia⁶¹.

A Tabela 3 detalha as características clínicas e laboratoriais dos doze pacientes descritos por esses autores.

Além disso, esse mesmo grupo de pesquisadores observou que 14 pacientes entre as 2644 crianças estudadas, apresentavam disfunção mitocondrial “possível”. Esses pacientes não apresentavam alterações histológicas/estruturais compatíveis com disfunção mitocondrial ou déficit enzimológico importante com comprometimento da cadeia respiratória, porém a maioria (11/14) apresentava sintomas /neurológicos, alguns tinham alteração

em ressonância nuclear magnética (RNM) de encéfalo (7/12), hiperlactatemia persistente (11/14) e/ou anormalidades histológicas menores (7/8)⁶¹.

Diante da preocupação dos dois óbitos publicados por Blanche e cols⁶⁰, pesquisadores americanos, formaram no ano de 2000, o Perinatal Safety Review Working Group que avaliou os óbitos de crianças menores que 5 anos de idade, expostas ao HIV e à terapia antirretroviral durante gestação e/ou período neonatal. Diversas publicações foram realizadas de acordo com o seguimento do estudo. Em 2006, esse grupo publicou dados dos óbitos de crianças nascidas entre os anos de 1993 e 1998. Entre as 5.517 crianças não infectadas estudadas, houve 9 óbitos (0,2%), sendo que em oito pacientes a causa da morte foi relacionada à prematuridade, malformação ao nascimento ou com diagnóstico bem definido da causa da morte (como trauma, meningite bacteriana ou complicações de cirurgia cardíaca), sem nenhuma manifestação clínica de disfunção mitocondrial. A síndrome da morte súbita do lactente foi o motivo do óbito do nono paciente, que não apresentava manifestações clínicas de disfunção mitocondrial e que apresentou na autópsia, achados patológicos consistentes com essa síndrome⁶².

Diversos outros estudos subsequentes foram realizados com o objetivo de determinar relação entre a terapia antirretroviral materna/neonatal e a disfunção mitocondrial, além de identificar a presença de sintomas nesses pacientes (principalmente manifestações graves e óbitos) e buscar uma ferramenta diagnóstica mais acessível (como o lactato) para a disfunção mitocondrial induzida por ITRN.

A medida que esses estudos foram sendo publicados, foi observado que apesar Blanche e cols⁶⁰ e Barret e cols⁶¹ terem encontrado pacientes com

manifestações clínicas graves, a maioria das crianças avaliadas nas publicações seguintes eram assintomáticas ou tinham manifestações leves/moderadas transitórias e que, interessantemente, também apresentavam hiperlactatemia, trazendo à tona a discussão sobre a possibilidade de usar o lactato sérico como um marcador indireto de disfunção mitocondrial.

A incidência de hiperlactatemia varia entre os estudos, porém de modo semelhante, a maioria dos pacientes evolui com queda de lactato ao longo do seguimento (Tabela 4)^{23-26,63,64}. Também foi observado que não há relação entre o valor do lactato sérico e a presença ou não de sintomatologia.

Alimenti e cols, por exemplo, observaram que a grande maioria das crianças avaliadas não apresentavam manifestação clínica, mesmo com altos níveis séricos de lactato como 66,5 mg/dL. Nesse estudo, apenas dois pacientes (entre as 38 crianças estudadas) tiveram sintomas (vômitos recorrentes e irritabilidade com 2 semanas de vida) associado à hiperlactatemia >45 mg/dL nesse mesmo período. Essas crianças foram expostas à terapia antirretroviral tripla materna (AZT, Lamivudina e Nefilnavir por 17 semanas e Didadosina, Estavudina e Indinavir por 37 semanas) e um dos bebês também havia sido exposto à heroína, cocaína e metadona. Ambos estavam em uso de AZT via oral no momento do quadro clínico e após duas semanas da suspensão do medicamento, houve resolução dos sintomas e queda dos níveis de lactato para menor que 37,9 mg/dL²³.

Noguera e cols também observaram pacientes sintomáticos (três entre 127 crianças) ao longo do seu acompanhamento. A primeira criança desenvolveu hipotonia axial leve aos 2 meses de idade. Havia sido exposta Didadosina (ddl), Estavudina (d4T) e Nelfinavir (NFV) durante a gestação. A

segunda paciente manteve os reflexos primários aos 2 meses de idade, além de apresentar leve espasticidade de membros e hipotonia axial. Durante a gestação havia sido exposta a AZT, Lamivudina (3TC), Nevirapina (NVP) e benzodiazepínicos. Já a terceira paciente havia sido exposta a 3TC, d4T, NVP e tabaco durante a gestação. Com 6 meses de idade, não possuía o controle da cabeça, não sentava sem apoio e apresentava espasticidade de membros superiores. As três crianças foram expostas ao AZT durante o trabalho de parto e AZT oral durante o período neonatal. Todas evoluíram com resolução da sintomatologia clínica (com 5 meses, 6 meses e 12 meses de idade respectivamente). Os níveis séricos de lactato desses pacientes no momento do quadro clínico variaram entre 19 e 63 mg/dL, com queda para valores normais (aproximadamente 9 mg/dL) em dois pacientes e queda para valor de 22,5 mg/dL em um paciente²⁴.

A presença de manifestações neurológicas também foi detectada por Soler-Palacín e cols, em cinco pacientes (12,8%). Quatro dessas crianças apresentavam hipertonia de membros inferiores e uma hipotonia axial. A maioria desses pacientes evoluiu com melhora do quadro e apenas uma criança se manteve com sequela persistente com 12 meses de idade. É importante ressaltar que quatro desses pacientes, apresentavam outros fatores de risco que justificassem essas manifestações neurológicas como exposição a drogas ilícitas em quatro casos e prematuridade (34 semanas) em um caso. Nessa publicação, não foi detalhado o nível sérico de lactato nos pacientes sintomáticos, porém os autores afirmam que esses pacientes não apresentaram alteração persistente de lactato e que uma maior frequência de hiperlactatemia foi observada no grupo de crianças assintomáticas⁶⁴.

Outros pesquisadores, entretanto, não observaram quadro clínico compatível com disfunção mitocondrial mesmo em pacientes com alterações do lactato sérico.

Crain e cols, em 2011, demonstraram níveis de lactato sérico acima de 27 mg/dL em 3,4% das crianças incluídas no estudo com uma prevalência semelhante (embora com menores valores de lactato) entre grupos com idades diferentes, inclusive no grupo dos maiores de 24 meses de idade. Todos os pacientes avaliados permaneceram assintomáticos durante todo o acompanhamento²⁶.

Um outro estudo avaliou a presença de hiperlactatemia em pacientes expostos a um curto período de terapia antirretroviral materna. Ekouevi e cols avaliaram o lactato sérico em três diferentes exposições a antirretrovirais materno: um grupo foi exposto a apenas AZT (iniciado com 36 semanas de gestação) e outro a AZT + 3TC (iniciado com 32 semanas de gestação). As mães de ambos os grupos receberam uma dose de NVP no momento do parto e os recém-nascidos receberam AZT via oral por 1 semana e uma única dose de NVP no segundo dia de vida. Havia ainda um grupo controle, cujo as mães não receberam antirretroviral durante a gestação e receberam apenas uma dose de NVP durante o trabalho de parto. Os bebês desse grupo também receberam dose única de NVP no período neonatal. A presença de hiperlactatemia na população geral foi de 13,4%, sendo de 11,6% no primeiro grupo, 14,5% no grupo II e 14,3% no grupo controle (sem diferença estatisticamente significativa). Nenhuma criança com hiperlactatemia apresentou sintomas de disfunção mitocondrial²⁵.

A Tabela 4 reúne os principais estudos relacionando hiperlactatemia, disfunção mitocondrial e exposição a terapia antirretroviral materna e/ou neonatal.

Independentemente da presença de manifestações clínicas, nota-se nos estudos descritos que a maioria dos pacientes tem alteração no nível sérico de lactato, o que nos traz a informação de que esse exame poderia ser uma ferramenta importante para auxiliar no diagnóstico de disfunção mitocondrial induzido por ITRN, evitando assim, um procedimento invasivo como uma biópsia na faixa etária pediátrica.

Tabela 3: Características clínicas, laboratoriais e radiológicas dos doze pacientes com disfunção mitocondrial confirmada. Extraído de Barret e cols ⁶¹.

Início dos sintomas	Sinais/sintomas	Hiperlactatemia (nível máximo observado em mg/dL)	RNM encéfalo (idade do paciente no momento do exame)	Déficit significativo enzimológico (idade no momento do exame)	Histologia (músculo)	Exposição perinatal a antirretrovirais
4 meses (óbito aos 13 meses)	Sintomas neurológicos, anormalidade motora	43,24	Atrofia, hipsinal em ponte e gânglios da base (12 meses)	Músculo: complexos I e IV Fígado: complexo I Linfócitos: complexos I e IV (12 meses)	Lesões menores	AZT e 3TC
4 meses (óbito aos 11 meses)	Convulsões, atraso de DNPM	36,03	Hipsinal difuso com necrose da substância branca. Hipsinal da ponte e do gânglio da base, atrofia (12 meses)	Músculo: complexo I e IV Fígado: complexo IV (5 meses)	Lesões menores	AZT e 3TC Didadosina no 3º trimestre gestação
1 ano e 2 meses	Atraso do cognitivo, convulsões, tetraplegia	-	Hipsinal difuso da substância branca (3 anos e 4 meses)	Músculo: complexos I e IV (2 anos e 4 meses)	Lesões menores	AZT
7 meses	Atraso cognitivo, convulsões, tetraplegia	-	Hipsinal difuso da substância branca (21 meses)	Músculo: complexo I (3 anos e 2 meses)	Lesões menores	AZT
7 meses (óbito aos 6 anos e 9 meses por anemia falciforme)	Atraso cognitivo, convulsões	-	Hipsinal difuso da substância branca, gânglio da base e ponte. Atrofia. (5 anos e 11 meses)	Músculo: complexo IV (9 meses)	Normal (microscopia de elétrons não realizada)	AZT
7 meses	Atraso cognitivo, hemiplegia, nistagmo	20,72	Hipsinal difuso de substância branca, ponte e gânglio da base (22 meses)	Músculo: complexo I e IV (9 meses)	Lesões menores	AZT e 3TC

AZT: Zidovudina 3TC: Lamivudina DNPM: desenvolvimento neuropsicomotor

(continua na próxima página)

Tabela 3 **(continuação)**: Características clínicas, laboratoriais e radiológicas dos doze pacientes com disfunção mitocondrial confirmada. Extraído de Barret e cols⁶¹.

Início dos sintomas	Sinais/sintomas	Hiperlactatemia (nível máximo observado em mg/dL)	RNM encéfalo (idade do paciente no momento do exame)	Déficit significativo enzimológico (idade no momento do exame)	Histologia (músculo)	Exposição perinatal a antirretrovirais
1 ano e 6 meses	Atraso da aquisição da linguagem	-	Normal	Linfócitos: complexo IV (3 anos)	Lesões menores	AZT e 3TC
8 meses	Cardiomiopatia, miopatia, importante mal estar	45,04	Hipersinal de substância branca posterior e ponte	Músculo: complexo I Coração: complexo IV(17 meses)	Características de doença mitocondrial	AZT
2 meses	Atraso cognitivo, hemiplegia	27,02	Hipersinal difuso da substância branca. Necrose(2 anos e 6m)	Normal(1 ano e 8 meses)	Características de doença mitocondrial	AZT e 3TC
9 meses	Hemiplegia	20,72	Normal (2 anos e 9 meses)	Músculo: complexo III (2 anos)	Lesões menores	AZT e 3TC
Ao nascimento	Atraso cognitivo, convulsões	50,44	Hipersinal difuso da substância branca e ponte. Atrofia	Músculo: complexo I (17 meses)	Lesões menores	AZT e e Zalcitabina Saquinavir no primeiro trimestre de gestação
4 meses	Atraso cognitivo, nistagmo	-	Hipersinal difuso de substância branca	Linfócitos: complexo IV (2 anos e 1 mês)	Lesões menores	AZT

AZT: Zidovudina 3TC: Lamivudina DNPM: desenvolvimento neuropsicomotor

Tabela 4- Resumo dos principais estudos relacionando hiperlactatemia, disfunção mitocondrial e exposição a terapia antirretroviral materna e/ou neonatal.

Estudo	Alteração do lactato	Níveis séricos de lactato	Queda dos níveis séricos de lactato	Sintomas	Exposição TARV		
					Durante gestação	Intraparto	Período neonatal
Giaquinto e cols ⁶³ (2001)	80% (>22,5 mg/dL)	Sem dados		Sem sintomas	Monoterapia ou terapia dupla	100% (AZT)	AZT: 100%
Alimenti e cols ²³ (2003)	92% (>18,9mg/dL)	<ul style="list-style-type: none"> • 64% dos pacientes: 19,8 – 44,1 mg/dL (média:30,6): • 26% dos pacientes: 45-66,6 mg/dL (média: 55) 	94% (após o 7º mês de vida)	2 pacientes: Vômitos e irritabilidade [#]	2 ITRN + 1 ITRNN ou IP)	100% (AZT)	AZT: 100% (média: 5,4 semanas) NVP: 23,7%
Noguera e cols ²⁴ (2004)	49,6% (> 22mg/dL)	<ul style="list-style-type: none"> • Média: - 6 semanas: 26 mg/dL - 6 m: 17 mg/dL 	70% (com 12 meses de vida) *3 pacientes com lactato entre 19,6 e 25,3 mg/dL aos 2 anos de idade	3 pacientes com sintomas neurológicos [#]	<ul style="list-style-type: none"> • AZT + 3TC • d4T + 3TC + NVP ou NFV 	Sem dados	<ul style="list-style-type: none"> • AZT: 96% (6 semanas) • AZT + 3TC + NVP: 4%

(continua na próxima página)

#mais detalhe no corpo do texto AZT: Zidovudina 3TC: Lamivudina NVP: Nevirapina d4T: Estavudina ARV: antirretroviral ITRN: inibidor da transcriptase reversa análogo a nucleosídeo ITRNN: inibidor da transcriptase reversa não análogo a nucleosídeo IG: idade gestacional

Tabela 4 (**continuação**) - Resumo dos principais estudos relacionando hiperlactatemia, disfunção mitocondrial e exposição a terapia antirretroviral materna e/ou neonatal.

Estudo	Alteração do lactato	• Níveis séricos de lactato	Queda dos níveis séricos de lactato	Sintomas	• Exposição o TARV	Estudo	• Alteração do lactato
Ekouevi e cols ²⁵ (2006)	13,4% (> 22,5mg/dL)	• Média: 19,8 mg/dL	89,3% (com 6 meses de vida) *3 pacientes com lactato entre 29,7 e 51,3mg/dL com 6 meses de idade [#]	Sem sintomas	• AZT (início com IG 36 semanas) AZT + 3TC (início com IG 32 semanas)	100% (NVP)	• AZT (1 semana) + NVP (1 dose): 76% • NVP (1 dose): 24%
Crain e cols ²⁶ (2011)	3,4% (>27mg/dL)	• Média: - < 6 m: 17 mg/dL - 6-24 m: 15mg/dL - ≥24 m: 14 mg/dL	Queda do valor do lactato sérico, porém sem queda na prevalência de hiperlactatemia	Sem sintomas	Terapia tripla	Sem dados	• AZT: 90% AZT + outro ARV: 8% Média: 43 dias (42-45 dias)
Soler-Palacin e cols ⁶⁴ (2012)	56,4% (>18,9mg/dL)	• Mediana: - 1 m: 35 mg/dL - 3 m: 32,4 mg/dL - 6 m: 31,5 mg/dL - 12 m: 27 mg/dL	76% (com 12 meses de vida)	5 pacientes com sintomas neurológicos [#]	• AZT + 3TC + NVP ou • AZT: 40,3%	Sem dados	• AZT (6 semanas): 79,5% • AZT (6 semanas) + 3TC + NVP (2 semanas): 20,5 %

mais detalhe no corpo do texto da transcriptase reversa análogo a nucleosídeo

AZT: Zidovudina

3TC: Lamivudina

NVP: Nevirapina d4T: Estavudina

ITRNN: inibidor da transcriptase reversa não análogo a nucleosídeo

ARV: antirretroviral
IG: idade gestacional

ITRN: inibidor

2. HIPÓTESE

A terapia antirretroviral materna e/ou neonatal induz à disfunção mitocondrial transitória, com aumento de lactato sérico em pacientes expostos ao HIV durante gestação e não infectados.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Primário

Avaliar a prevalência de hiperlactatemia em lactentes expostos ao HIV e TARV materna e/ou neonatal acompanhados no ambulatório de Infectologia Pediátrica do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICr – HCFMUSP).

3.2. Objetivos Secundários

Avaliar nas crianças com valores aumentados de lactato:

- Presença de manifestações clínicas;
- Fatores de risco ou agravos ocorridos na gestação e parto com possível associação no aumento do lactato pós-natal.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A avaliação foi realizada de forma prospectiva em pacientes do ambulatório de Infectologia Pediátrica do ICr – HCFMUSP.

Para ser elegível para o estudo, os pacientes deveriam preencher os seguintes critérios de inclusão: ser lactente com idade entre 0 e 20 semanas de vida, filho de mãe HIV positivo, iniciar acompanhamento no ambulatório de Infectologia Pediátrica no período de 03 de novembro de 2015 a 03 de novembro de 2017 e ter termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) assinado por pais ou responsáveis.

Pacientes que confirmaram diagnóstico de infecção pelo HIV durante o acompanhamento laboratorial foram excluídos do estudo, assim como, pacientes cujo pais ou responsáveis não assinaram o TCLE. Pacientes que não realizaram nenhuma coleta de lactato também foram excluídos da análise de resultados.

Todos os lactentes acompanhados foram avaliados laboratorialmente conforme as recomendações do “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Para o Manejo da Infecção Pelo HIV em Crianças e Adolescentes– Ministério da Saúde, 2014”⁶⁵ (em vigor até o ano de 2017) e pelo “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em crianças e adolescentes”¹⁴ instituído pelo Ministério da Saúde a partir de 2017 como substituto à edição de 2014 (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5- Roteiro para acompanhamento laboratorial de crianças expostas ao HIV durante a gestação. Extraído do “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Para o Manejo da Infecção Pelo HIV em Crianças e Adolescentes– Ministério da Saúde, 2014”⁶⁵.

Exames	Idade				
	Ao nascer ou na 1ª consulta ambulatorial	1-2 meses	4 meses	6-12 meses	12-18 meses
Hemograma	x	x	x	x	x
ALT,AST,GGT,FA, bilirrubinas	x	x			x
Glicemia	x	x	x		x
Sorologia HIV*	x	x			X**
Carga viral§		x	x		
TORCH£	x				
Sífilis	x				
VHB e VHC#	x				
LT-CD4+/CD8		x	x		
HTLV 1/2##	x				

*Sempre que houver dúvidas em relação ao estado de infecção da mãe (p. ex., crianças abandonadas ou mães sem documentação confiável em relação a seu estado de infecção).

** Caso o resultado da sorologia seja positivo ou indeterminado, recomenda-se repetir após 3 meses.

§ Se a carga viral se revelar com nível detectável, repetir assim que possível o exame; caso a carga viral apresente-se em nível indetectável, repeti-la na criança com idade acima de 4 meses, quando o primeiro teste tiver sido realizado na criança entre 1 e 2 meses de idade.

£ Sorologias para toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus e herpes simples. Solicitar de acordo com as sorologias maternas no pré-natal.

Seguir acompanhamento sorológico e virológico de crianças nascidas de mães coinfectadas por HIV com VHB, VHC, HTLV, sífilis e toxoplasmose.

Se positivo, repetir aos 12 e 18 meses.

Tabela 6- Roteiro para acompanhamento laboratorial de crianças expostas ao HIV durante a gestação. Extraído do “Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Para o Manejo da Infecção Pelo HIV em Crianças e Adolescentes– Ministério da Saúde, 2018”¹⁴.

Exames	Idade				
	Ao nascer ou na 1ª consulta ambulatorial	1-2 meses	4 meses	6-12 meses	12-18 meses
Hemograma	x	x	x	x	x
ALT,AST,GGT,FA, bilirrubinas	x	x			x
Glicemia	x	x	x		x
Sorologia HIV*					X**
Carga viral [§]		x	x		
TORCH [£]	x				
Sífilis (VDRL e RPR)	x				
Anti-HBs [#]				x	
Anti-HCV					x
Sorologia HTLV 1/2 ^{##}					X
Sorologia para Chagas ^{&}					x

*Sempre que houver dúvidas em relação ao estado de infecção da mãe (p. ex., crianças abandonadas ou mães sem documentação confiável em relação a seu estado de infecção).

** Caso o resultado da sorologia seja positivo ou indeterminado, recomenda-se repetir exame.

§ Em caso de CV-HIV detectável, repetir imediatamente o exame.

£ Sorologias para toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus e herpes simples.

Coletar anti-HBs para verificar soroconversão 30-60 dias após o término de esquema de vacinação com 3 doses. Crianças expostas ao HIV devem realizar esquema vacinal para hepatite B.

Para as crianças cujas mães têm exame reagente para o HTLV. Caso reagente, encaminhar para serviço especializado.

& Indicado para locais em que a doença de Chagas é endêmica, ou caso a mãe seja portadora.

Para a avaliação da toxicidade mitocondrial, foi realizada a coleta de lactato sérico com 1 mês (Avaliação 1), 4 meses (Avaliação 2) e 12 meses (Avaliação 3) de idade. Níveis séricos de lactato ≤ 19 mg/dL foram considerados normais e lactatos > 19 mg/dL foram classificados alterados conforme trabalhos publicados anteriormente^{23,64,66}. Lactatos séricos > 45 mg/dL foram considerados de risco para disfunção sistêmica grave e exames complementares (ALT, AST, DHL, CPK, lipase e gasometria venosa) foram solicitados para esses pacientes.

A cada consulta ambulatorial, os pais ou responsáveis eram interrogados quanto a queixas e/ou intercorrências e as crianças eram examinadas detalhadamente, incluindo dados sobre peso, comprimento, perímetro cefálico além de avaliação do desenvolvimento neuropsicomotor através da escala de Denver⁶⁷. Em caso de manifestações clínicas, o paciente deveria ser internado e realizada nova coleta de lactato sérico assim como a coleta dos exames complementares, avaliação da neurologia pediátrica de acordo com os sinais/sintomas e ressonância magnética de encéfalo quando indicada. Em casos de níveis de lactato entre 19 mg/dL e 45 mg/dL, novo lactato sérico foi coletado. O fluxograma seguido para a realização do estudo está detalhado na Figura 5.

A coleta de dados do pré-natal, peri-parto e período neonatal foi realizada com um questionário contendo informações como: idade materna durante a gestação, uso de TARV pela mãe durante a gravidez, carga viral e CD4 materno próxima ao parto, uso de drogas pela mãe (lícitas como álcool e tabaco ou ilícitas), coinfeções maternas, tipo de parto, complicações durante o parto ou gestação, uso de AZT intraparto e no período neonatal, uso de NVP

pelo recém-nascido, escala de Apgar, peso, comprimento e perímetro cefálico ao nascimento (Anexo 1).

Todos os exames laboratoriais foram coletados e realizados pela equipe do laboratório do ICr-HCFMUSP.

A coleta do lactato sérico foi realizada de duas maneiras:

- Através de gasometria venosa (sangue total): coleta de no mínimo 1 ml de sangue em seringa heparina lítica, com processamento imediato após a coleta e leitura no aparelho ABL 800 – Radiometer, pela técnica de amperometria.

- Através lactato sérico isolado (plasma): coleta de no mínimo 1 ml em tubo de tampa cinza fluoreto, com processamento após 15 minutos de centrifugação e leitura no aparelho COBAS 6000, pela técnica/método de Marbach and Weil modificado, oxidação lactato para piruvato.

A coleta foi realizada por técnicos e auxiliares em enfermagem já no ambiente do laboratório. As punções venosas para a coleta dos exames foram realizadas com o uso de torniquete. A orientação da equipe do laboratório é de que uso do garrote não ultrapasse um período maior do que um minuto, porém o torniquete foi mantido até se obter sucesso na punção venosa. Após a coleta, a amostra foi processada imediatamente.

O estudo foi realizado com o consentimento dos pais ou responsáveis (mediante assinatura de TCLE) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da FMUSP (parecer nº 1.355.652) (anexo 2).

Figura 5- Fluxograma para a coleta de lactato sérico e exames complementares.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As características qualitativas avaliadas foram descritas com uso de frequências absolutas e relativas e as características quantitativas foram descritas com uso de medidas resumo (média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo)⁶⁸.

O lactato foi descrito a cada avaliação com uso de medidas resumo. Para a comparação entre os níveis séricos de lactato ao longo do período do estudo foi utilizado Equações de Estimação Generalizadas (EEG) com distribuição gama e função de ligação identidade, supondo matriz de correlações autorregressivas de primeira ordem entre os momentos⁶⁹. A análise para determinar em quais momentos houve diferença entre os níveis de lactato foi feita por comparações múltiplas de Bonferroni⁷⁰.

A comparação entre valor do lactato na primeira coleta e cada característica qualitativa avaliada foi realizada através de testes Mann-Whitney (para duas categorias) ou testes Kruskal-Wallis (para mais de duas categorias)⁶⁸, sendo esse último seguido de comparações múltiplas de Dunn⁷⁰ para avaliar entre quais categorias ocorreram as diferenças no nível sérico de lactato.

Para avaliar a existência de correlação entre o lactato e as características quantitativas foram calculadas as correlações de Spearman⁶⁸.

Com os resultados obtidos na primeira amostra de lactato foram criados dois grupos de pacientes: “pacientes com lactato normal” e “pacientes com lactato alterado”. Para a comparação desses grupos em relação a variáveis quantitativas foram utilizados os testes de qui-quadrado ou testes exatos (teste exato de Fisher ou teste da razão de verossimilhanças)⁶⁸. Para as características quantitativas a comparação entre os grupos foi realizada através de testes t-Student ou testes Mann-Whitney⁶⁸.

Para realização das análises foi utilizado o *software* IBM-SPSS *for Windows* versão 20.0 e para tabulação dos dados e ilustração dos resultados foi utilizado o *software* Microsoft Excel 2003. Os testes foram realizados com nível de significância de 5%.

6. RESULTADOS

6.1. Características Gerais

No período de 03 de novembro de 2015 a 03 de novembro de 2017, cinquenta e três crianças com CID-10 de Z-20.6 (contato com e exposição ao vírus da imunodeficiência humana) iniciaram acompanhamento no ambulatório de Infectologia Pediátrica do ICr–HCFMUSP. Destas, 17 preencheram os critérios de exclusão: dois pacientes com idade maior que 20 semanas na primeira consulta ambulatorial, dois pacientes cujos pais ou responsáveis recusaram participação no estudo, quatro pacientes que não realizaram as coletas de lactato, oito pacientes sem TCLE preenchido e assinado e um paciente diagnosticado com infecção por HIV durante o seguimento.

Entre os 36 pacientes incluídos no estudo, 52,8% eram do sexo feminino. A maioria das crianças nasceu por parto cesárea (75%), a termo (77,8%) com idade gestacional média de 37,8 semanas ($\pm 2,3$ semanas) e sem sinais de asfixia no primeiro (75%) e quinto (94,4%) minutos.

Todos os pacientes realizaram profilaxia com antirretroviral após o nascimento, sendo que 77,8% receberam apenas AZT e 22,8% AZT e NVP.

Quanto às características maternas, a maioria (83,3%) tinha idade menor que 35 anos no momento da gestação. Aproximadamente 86% relatava uso regular de TARV, sendo que 61,1% já fazia uso de antirretrovirais antes da gestação. O esquema antirretroviral era composto por 3 drogas em 86,1% das gestantes e os antirretrovirais mais utilizados foram 3TC (97,2%), TDF (58,3%), LPV/r (44,4%) e AZT (41,7%). Houve pouco relato (5,6% em cada categoria) de uso de drogas lícitas (tabaco e álcool) ou ilícitas (cocaína, maconha, heroína, crack). Quanto a comorbidades maternas, observou-se hipertensão e diabetes

durante a gestação em 13,9% e 5,6% respectivamente. Três mães relataram outras comorbidades ou agravos na gestação como hipotireoidismo subclínico, corrimento vaginal, deficiência de proteína S e tentativa de aborto. Coinfecções durante a gestação foram identificadas em 16,7% das gestantes (dois casos de sífilis, um de hepatite C sem uso de medicação, um de toxoplasmose, um de citomegalovírus (CMV) e um de herpes zoster). Não houve casos de infecção congênita por nenhum desses patógenos.

Em relação ao estado materno da infecção pelo HIV, a carga viral no terceiro trimestre de gestação variou de indetectável a 77.107 cópias/ml, com média de 4007,3 cópias/ml. Em quase 64% das mães, o CD4 era maior que 500 células, 27,8% entre 200 e 500 células em apenas 8,3% delas, o CD4 estava menor que 200 células.

Quase todas as mães (91,7%) receberam AZT durante o trabalho de parto. Parto expulsivo ou nascimento fora de ambiente hospitalar foram os motivos para que três mães não recebessem esse antirretroviral durante o trabalho de parto.

As características gerais dos 36 pacientes incluídos no estudo e de suas respectivas mães estão descritas nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7- Descrição das características gerais de nascimento e parto dos 36 pacientes incluídos no estudo.

Variável	Descrição
	(N = 36)
Tipo de parto, n (%)	
Normal	9 (25)
Cesárea	27 (75)
Complicações no parto, n (%)	
Não	33 (91,7)
Sim	3 (8,3)
AZT durante parto, n (%)	
Não	3 (8,3)
Sim	33 (91,7)
Idade gestacional (semanas)	(N = 35)
média ± DP	37,8 ± 2,3
mediana (mín.; máx.)	38,6 (28,3; 40,3)
Idade gestacional (semanas), n (%)	
< 32	1 (2,8)
32 a 34	1 (2,8)
34 a 36	5 (13,9)
37 ou +	28 (77,8)
Sem informação	1 (2,8)
Sexo, n (%)	
Feminino	19 (52,8)
Masculino	17 (47,2)
Apgar 1º minuto	(N = 34)
média ± DP	8,35 ± 1,3
mediana (mín.; máx.)	9 (5; 10)
Asfixia 1º minuto, n (%)	
Não	27 (75)
Sim	7 (19,4)
Sem informação	2 (5,6)
Apgar 5º minuto	(N = 34)
média ± DP	9,53 ± 0,56
mediana (mín.; máx.)	10 (8; 10)
Asfixia 5º minuto, n (%)	
Não	34 (94,4)
Sem informação	2 (5,6)
ARV período neonatal, n (%)	
AZT	28 (77,8)
AZT+NVP	8 (22,2)

(continua na próxima página)

AZT: Zidovudina NVP: Nevirapina ARV: antirretroviral n: número DP: desvio padrão
mín: mínimo máx: máximo

Tabela 7 (**continuação**) - Descrição das características gerais de nascimento e parto dos 36 pacientes incluídos no estudo.

Variável	Descrição (N = 36)
Peso ao nascer (Kg)	(N = 35)
média ± DP	2,84 ± 0,67
mediana (mín.; máx.)	2,82 (1,23; 4,18)
Peso ao nascer < 2,5 kg, n (%)	
Não	26 (72,2)
Sim	9 (25)
Sem informação	1 (2,8)
Comprimento ao nascer (cm)	(N = 35)
média ± DP	46,5 ± 2,9
mediana (mín.; máx.)	47 (37,5; 52)
Perímetro cefálico ao nascer (cm)	(N = 32)
média ± DP	33,8 ± 2,4
mediana (mín.; máx.)	34 (27,5; 38)
AZT: Zidovudina NVP: Nevirapina ARV: antirretroviral n: número DP: desvio padrão mín: mínimo máx: máximo	

Tabela 8- Descrição das características maternas durante a gestação.

Variável	Descrição (N = 36)
Idade materna (anos)	
média $\pm$ DP	28,8 $\pm$ 5,7
mediana (mín.; máx.)	28 (19; 39)
Idade $\geq$ 35 anos, n (%)	
Não	30 (83,3)
Sim	6 (16,7)
TARV durante gestação, n (%)	
Não	1 (2,8)
Sim	31 (86,1)
Irregular	4 (11,1)
Tempo de TARV materna, n (%)	
Início na gestação	14 (38,9)
1 a 4 anos	7 (19,4)
5 anos ou +	14 (38,9)
Sem informação	1 (2,8)
Início TARV na gestação, n (%)	
Não	22 (61,1)
1º trimestre	6 (16,7)
2º trimestre	8 (22,2)
TARV durante a gestação	
AZT	15 (41,7)
3TC	35 (97,2)
ABC	2 (5,6)
TDF	21 (58,3)
NVP	3 (8,3)
EFZ	4 (11,1)
ATZ/R	9 (25)
DRV/R	4 (11,1)
LPV/R	16 (44,4)
RAL	5 (13,9)
Carga viral	
média $\pm$ DP	4007,3 $\pm$ 13473,2
mediana (mín.; máx.)	0 (0; 77107)
Log carga viral	
média $\pm$ DP	1,38 $\pm$ 1,64
mediana (mín.; máx.)	0 (0; 4,88)

(Continua na próxima página)

TARV: terapia antirretroviral ARV: antirretrovirais AZT: Zidovudina 3TC: Lamivudina
 ABC: Abacavir TDF: Tenofovir NVP: Nevirapina EFZ: Efavirenz ATZ/r: Atazanavir/Ritonavir
 DRV/r: Darunavir/Ritonavir LPV/r: Lopinavir/Ritonavir RAL: Raltegravir mín: mínimo
 máx: máximo céls: células DP: desvio padrão n: número

Tabela 8 (**continuação**) - Descrição das características maternas durante a gestação.

Variável	Descrição (N = 36)
CD4	
média ± DP	630,9 ± 300,5
mediana (mín.; máx.)	664,5 (80; 1344)
% CD4	(N = 35)
média ± DP	31,2 ± 9
mediana (mín.; máx.)	31 (13; 45)
CD4 categorizado, n (%)	
> 500 céls.	23 (63,9)
200 - 500 céls.	10 (27,8)
< 200 céls.	3 (8,3)
Drogas na gestação, n (%)	(N = 35)
Tabagismo	2 (5,6)
Alcool	2 (5,6)
Drogas ilícitas	2 (5,6)
Co-infecção, n (%)	
Não	28 (77,8)
Sim	6 (16,7)
Sem informação	2 (5,6)
Hipertensão na gestação, n (%)	
Não	30 (83,3)
Sim	5 (13,9)
Sem informação	1 (2,8)
Diabetes na gestação, n (%)	
Não	33 (91,7)
Sim	2 (5,6)
Sem informação	1 (2,8)
Outras comorbidades na gestação, n (%)	
Não	32 (88,9)
Sim	3 (8,3)
Sem informação	1 (2,8)

TARV: terapia antirretroviral ARV: antirretrovirais AZT: Zidovudina 3TC: Lamivudina
 ABC: Abacavir TDF: Tenofovir NVP: Nevirapina EFZ: Efavirenz ATZ/r: Atazanavir/Ritonavir
 DRV/r: Darunavir/Ritonavir LPV/r: Lopinavir/Ritonavir RAL: Raltegravir mín: mínimo
 máx: máximo céls: células DP: desvio padrão n: número

6.2. Dados dos Níveis de Lactato Sérico

Durante o seguimento ambulatorial dos 36 pacientes incluídos, foram coletadas no total 87 amostras de lactato, com resultados variando entre 8 a 67 mg/dL. Dentre essas 87 amostras coletadas, 37 (42,5%) foram classificadas como alteradas. No total, nove amostras de oito pacientes foram maiores que 45 mg/dL, sendo que sete ocorreram na coleta da primeira amostra. Um paciente apresentou valores de lactato maiores que 45 mg/dL em duas amostras (primeira e segunda coleta) e um paciente teve uma alteração importante de lactato apenas na segunda amostra. Dados mais detalhados desses pacientes serão descritos ao longo desse capítulo.

Todos os 36 pacientes coletaram a primeira amostra de lactato, 32 pacientes coletaram pelo menos duas e 19 pacientes coletaram três ou mais amostras.

A primeira amostra de lactato (Avaliação 1) foi coletada com uma média de idade de oito semanas ($\pm 3,9$ semanas). Os resultados variaram entre 10 a 60 mg/dL, com média de 29,4 mg/dL ($\pm 15,7$ mg/dL) e mediana de 23,5 mg/dL. Entre as 36 coletas realizadas nesse momento, 23 (63,9%) tiveram valores > 19mg/dL conforme observado na Figura 6.

Figura 6- Pacientes incluídos no estudo e os resultados da primeira coleta de lactato

Dezenove pacientes entre os 23 com lactato alterado na primeira amostra (82,6%), coletaram novo lactato conforme o fluxograma da Figura 5. Nesse novo exame, doze pacientes (63,1%) estavam com dosagem de lactato dentro da normalidade e sete (36,9%) com resultados acima de 19 mg/dL (22 a 61 mg/dL). Entre esses 7 pacientes com lactato ainda alterado na segunda coleta, cinco coletaram a terceira amostra e apenas um deles mantinha a alteração (23 mg/dL).

A segunda coleta de lactato (Avaliação 2) foi realizada em 32 pacientes, com uma média de 19,8 semanas de idade ($\pm 12,6$ semanas). Os resultados dessa segunda amostra demonstraram média e mediana de lactato (respectivamente de $18,3 \pm 11,1$ mg/dL e 15 mg/dL) menores que as encontradas nas primeiras amostras (média: $29,4 \pm 15,7$ mg/dL e mediana: 23,5

mg/dL). O nível de lactato nas amostras da Avaliação 2 variou entre 8 e 61 mg/dL, sendo que onze pacientes (34,4%) apresentaram nível maior que 19 mg/dL e entre essas, apenas duas amostras acima de 45 mg/dL. Entre os onze pacientes com hiperlactatemia acima de 19 mg/dL, sete realizaram um novo exame conforme determinado e apenas um manteve lactato acima do valor considerado normal (porém nenhum paciente com resultado acima de 45 mg/dL).

Dezenove crianças coletaram a terceira amostra de lactato (Avaliação 3), com uma média de idade de 55,3 semanas ($\pm 24,3$ semanas). Os resultados variaram entre 11 e 26 mg/dL. Nesse grupo de pacientes, há apenas 3 lactatos séricos acima de 19 mg/dL (15,8%) e nenhum acima de 45 mg/dL.

Essa redução do lactato ao longo do primeiro ano de vida dos pacientes ocorreu principalmente entre a primeira e a segunda amostra e é claramente demonstrada pelo Gráfico 1.

Gráfico 1- Valores médios de lactato e respectivos erros padrões ao longo das avaliações no primeiro ano de vida.

Além disso, comparando-se os valores de lactato ao longo do seguimento dos pacientes incluídos no estudo, observa-se também uma redução estatisticamente significativa no valor médio de lactato entre as coletas ($p < 0,001$), que ocorreu principalmente entre a 1ª e a 2ª avaliação e a 1ª e 3ª avaliação. É importante ressaltar que essa redução foi observada já no momento da coleta da segunda amostra, com um $p < 0,001$ (Tabelas 9 e 10).

Tabela 9- Descrição do lactato a cada momento de avaliação e do tempo das aferições e resultado da comparação do lactato ao longo das avaliações.

Variável	1ª avaliação	2ª avaliação	3ª avaliação	p
	(N = 36)	(N = 32)	(N = 19)	
Lactato				<0,001
média ± DP	29,4 ± 15,7	18,3 ± 11,1	16,3 ± 4,3	
mediana (mín.; máx.)	23,5 (10; 67)	15 (8; 61)	15 (11; 26)	
Tempo até as coletas				
média ± DP	8 ± 3,9	19,8 ± 12,6	55,3 ± 24,3	
mediana (mín.; máx.)	6,6 (3,6; 18,4)	18,1 (7,1; 75,3)	55,9 (17; 102,1)	

EEG com distribuição gama e função de ligação identidade

Tabela 10- Comparação do lactato entre os momentos de avaliação.

Comparação		Diferença média	Erro Padrão	gl	p	IC (95%)	
						Inferior	Superior
1ª avaliação -	2ª avaliação	10,87	2,70	1	<0,001	4,40	17,34
1ª avaliação -	3ª avaliação	13,58	3,08	1	<0,001	6,21	20,94
2ª avaliação -	3ª avaliação	2,70	2,26	1	0,693	-2,70	8,11

Comparações múltiplas de Bonferroni

Após observar a queda na frequência e na média de lactato ao longo do seguimento, tentou-se correlacionar os valores da primeira amostra de lactato com características quantitativas (Tabela 11) e qualitativas (Tabela 12) maternas e neonatais.

Nota-se que não houve correlação estatisticamente significativa entre as características quantitativas e a primeira coleta de lactato.

Os bebês cujo as mães fizeram uso de esquema antirretroviral contendo dois ITRN associado a Nevirapina ou Efavirenz e aqueles que receberam como profilaxia neonatal Zidovudina e Nevirapina, apresentaram lactatos > 19mg/dL em pelo menos uma das amostras coletadas durante o seguimento ($p= 0,441$). Além disso, as crianças expostas a Abacavir durante a gestação apresentaram médias de lactato maiores comparadas àquelas que não foram expostas a esse ARV (46,5 mg/dL vs 28,4 mg/dL; $p= 0,114$). Não houve diferença significativa a correlação com os outros antirretrovirais utilizados, o tempo de terapia antirretroviral materna, a regularidade do uso da TARV durante a gestação ou com o uso de AZT durante o trabalho de parto.

Ainda em relação a dados maternos, também não houve correlação com a idade materna, o estado da infecção pelo HIV, a presença de comorbidades ou coinfeções durante a gestação, com o uso de drogas ilícitas ou com o consumo de álcool. Tabagismo materno foi relacionado com menor média de lactato na primeira coleta (20,6 mg/dL x 29,3 mg/dL $p= 0,04$), porém esse dado representa um número muito pequeno de pessoas ($n=2$) e não foi avaliado utilizando comparações multivariadas.

Dados neonatais como idade gestacional de nascimento, peso ao nascimento, escala de Apgar e complicações durante o parto também não foram correlacionados aos níveis alterados de lactato coletados na primeira avaliação. De modo semelhante, o tipo de profilaxia (AZT ou AZT + NVP) utilizada no período neonatal não interferiu nos níveis de lactato.

Tabela 11- Correlações do lactato na 1ª avaliação com as características quantitativas avaliadas.

Variável	Correlação	N	p
Idade materna (anos)	-0,015	36	0,929
Carga viral	0,003	36	0,987
Log carga viral	0,011	36	0,949
CD4	0,110	36	0,522
% CD4	0,147	35	0,401
Idade gestacional (semanas)	-0,119	35	0,495
Apgar 1º minuto	-0,102	34	0,565
Apgar 5º minuto	-0,311	34	0,074
Peso ao nascer (Kg)	-0,161	35	0,355
Comprimento ao nascer (cm)	-0,147	35	0,401
Perímetro cefálico ao nascer (cm)	-0,187	32	0,305

Correlação de Spearman

Kg: kilos cm: centímetros

Tabela 12- Descrição do lactato na 1ª avaliação com cada característica qualitativa avaliada e resultado das comparações.

Variável	média ± DP	mediana (mín.; máx.)	N	p
Idade ≥ 35 anos				0,159
Não	27,9 ± 15,5	22 (10; 67)	30	
Sim	37 ± 15,9	36,5 (17; 60)	6	
TARV durante gestação				0,185*
Não	10 ± 0	10 (10; 10)	1	
Sim	30,1 ± 14,4	25 (12; 60)	31	
Irregular	28,8 ± 25,8	18 (12; 67)	4	
Tempo de TARV materna				0,295*
Início na gestação	24,8 ± 12	20,5 (12; 49)	14	
1 a 4 anos	33,3 ± 13,5	32 (16; 49)	7	
5 anos ou +	33,4 ± 18,9	28,5 (12; 67)	14	
Início TARV na gestação				0,406*
Não	32,3 ± 17,3	28,5 (10; 67)	22	
1º trimestre	22,2 ± 10,4	19 (14; 42)	6	
2º trimestre	26,8 ± 13,5	22 (12; 49)	8	
TARV durante gestação				
AZT				0,446
Não	28,4 ± 16,7	23 (10; 67)	21	
Sim	30,7 ± 14,6	24 (15; 60)	15	
3TC				0,444
Não	44 ± 0	44 (44; 44)	1	
Sim	29 ± 15,7	23 (10; 67)	35	
ABC				0,114
Não	28,4 ± 15,6	23 (10; 67)	34	
TDF				0,409
Não	30,8 ± 14,7	24 (15; 60)	15	
Sim	28,4 ± 16,7	23 (10; 67)	21	
NVP				0,409
Não	28,8 ± 15,9	23 (10; 67)	33	
Sim	36 ± 14,2	41 (20; 47)	3	
EFZ				0,752
Não	28,9 ± 15,4	23 (12; 67)	32	
Sim	33,1 ± 20,1	31,6 (10; 59)	4	
ATZ/R				0,407
Não	31,3 ± 16,7	25 (10; 67)	27	
Sim	23,8 ± 11,1	20 (12; 49)	9	
DRV/R				0,865
Não	28,6 ± 14,3	23,5 (10; 60)	32	
Sim	35,8 ± 26,8	32 (12; 67)	4	
LPV/R				0,639
Não	27,9 ± 14,7	23 (10; 59)	19	
Sim	31,1 ± 17	24 (13; 67)	17	
RAL				0,756
Não	29 ± 14,4	24 (10; 60)	31	
Sim	31,6 ± 24,6	16 (12; 67)	5	

Continua na próxima página)

Céls: células AZT: Zidovudina NVP: Nevirapina ARV: antirretroviral DP:desvio padrão mín: mínimo máx: máximo N: número

Tabela 12 (**continuação**)- Descrição do lactato na 1ª avaliação com cada característica qualitativa avaliada e resultado das comparações.

Variável	média ± DP	mediana (mín.; máx.)	N	p
CD4 categorizado				0,405*
> 500 céls.	31 ± 13,7	31,2 (12; 60)	23	
200 - 500 céls.	27 ± 19,7	21 (10; 67)	10	
< 200 céls.	25,3 ± 20,6	15 (12; 49)	3	
Tabagismo				0,040
Não	29,8 ± 15,5	24 (12; 67)	33	
Sim	12,5 ± 3,5	12,5 (10; 15)	2	
Álcool				0,407
Não	29,3 ± 15,7	23 (12; 67)	33	
Sim	20,6 ± 15	20,6 (10; 31,2)	2	
Drogas ilícitas				>0,999
Não	28,2 ± 14,2	23 (12; 60)	33	
Sim	38,5 ± 40,3	38,5 (10; 67)	2	
Co-infecção				0,318
Não	28,5 ± 15,7	23,5 (12; 67)	28	
Sim	33,5 ± 15	33,5 (17; 49)	6	
Tipo de parto				0,086
Normal	22 ± 10,6	18 (10; 42)	9	
Cesárea	31,9 ± 16,5	25 (12; 67)	27	
Hipertensão na gestação				0,664
Não	28,5 ± 16,1	22 (10; 67)	30	
Sim	30,6 ± 13	32 (12; 44)	5	
Diabetes na gestação				0,370
Não	28,4 ± 15,9	23 (10; 67)	33	
Sim	36,5 ± 6,4	36,5 (32; 41)	2	
Outras comorbidades na gestação				0,124
Não	27 ± 13,5	23 (10; 60)	32	
Sim	48,3 ± 25,7	59 (19; 67)	3	
Complicações no parto				0,144
Não	28,2 ± 15,3	23 (10; 67)	33	
AZT durante parto				0,587
Não	22,3 ± 11,2	25 (10; 32)	3	
Sim	30 ± 16	23 (12; 67)	33	
Idade gestacional (semanas)				0,643
< 37	31,3 ± 16,8	25 (10; 59)	7	
37 ou +	28,2 ± 15,5	22 (12; 67)	28	
Sexo				0,346
Feminino	32 ± 17,4	25 (10; 67)	19	
Masculino	26,5 ± 13,5	20 (12; 49)	17	
Asfixia 1º minuto				0,559
Não	28,4 ± 15,3	23 (12; 67)	27	
Sim	32,4 ± 17,7	25 (10; 59)	7	
ARV período neonatal				0,537
AZT	29 ± 13,1	24,5 (12; 59)	28	
AZT+NVP	30,6 ± 23,8	16 (10; 67)	8	
Peso ao nascer < 2,5 kg				0,492
Não	27,9 ± 15,7	22 (12; 67)	26	
Sim	31,4 ± 15,8	25 (10; 59)	9	

Teste Mann-Whitney; * Teste Kruskal-Wallis

Céls: células AZT: Zidovudina NVP: Nevirapina ARV: antirretroviral DP:desvio padrão mín: mínimo máx: máximo N: número

Apenas três pacientes (entre as 36 crianças avaliadas) apresentaram complicações durante o parto: hipotonia com necessidade de ventilação por pressão positiva, pré-eclâmpsia com hemorragia intracraniana grau II e corioamnionite por ruptura prematura de membranas por 12 dias e apneia da prematuridade. Dois desses pacientes foram prematuros (28 semanas e 33 semanas respectivamente) e as três apresentavam Apgar abaixo de sete no primeiro minuto. Em relação ao lactato desses pacientes, um deles apresentou elevados valores de lactato na primeira e segunda amostra (59 mg/dL e 61 mg/dL) e outra criança apresentou lactato de 44 mg/dL na primeira amostra com posterior normalização.

Durante o acompanhamento, nenhum paciente apresentou manifestações clínicas compatíveis com disfunção mitocondrial tais como: convulsões, atraso de desenvolvimento neuropsicomotor, neuropatias periféricas, miopatias, cardiomiopatias ou outros sinais/sintomas. Também não houve necessidade de realização de exame de imagem ou de internação em nenhum dos casos.

6.3. Lactatos Séricos Maiores que 45mg/dL

Dentre as 87 amostras de lactatos coletadas, nove tiveram resultados acima de 45 mg/dL. Sete dessas alterações foram observadas na primeira coleta com valores entre 47 mg/dL e 67 mg/dL e as outras duas ocorreram na segunda amostra com níveis de 50 mg/dL e 61 mg/dL. Não houve nenhum caso de lactato acima de 45 mg/dL na terceira coleta.

Uma nova coleta foi realizada em seis dos sete casos com lactatos elevados na primeira amostra. Quatro evoluíram com níveis considerados normais (10 mg/dL a 16 mg/dL), um apresentava lactato de 26 mg/dL e apenas uma paciente manteve hiperlactatemia grave de 61 mg/dL, com posterior normalização (14 mg/dL) na terceira coleta.

Exames complementares (gasometria venosa, ALT, AST, DHL, lipase, CPK) foram solicitados para seis entre as oito crianças com lactato acima de 45mg/dL (duas mães recusaram a coleta). Porém apenas três realizaram a triagem completa: em um paciente os exames não foram realizados por sangue hemolisado e nos outros dois não foram obtidos resultados de lipase, DHL e CPK. Nenhum dos exames complementares realizados apresentou alteração (Tabela 13).

Tabela 13: Níveis de lactato sérico e resultados de exames complementares dos pacientes com hiperlactatemia grave.

Paciente	Valores de lactato (mg/dL)			Exames complementares
	1º amostra	2º amostra	3º amostra	
1	47	15	14	sangue hemolisado Gasometria venosa: pH 7,4/ pCO ₂ 32,2 / pO ₂ 37,1 / HCO ₃ 20,3 / BE: -4,7 TGO 25 / TGP 24
2	49	16	14	Recusa de coleta
3	48	26	18	Gasometria venosa: pH 7,41/ pCO ₂ 31,5 / pO ₂ : 105 / HCO ₃ 21,4 / BE: -4 AST 22 / ALT 16 / DHL 220 / lipase 11 CPK 74
4	60	10	-	Gasometria venosa: pH 7,44 / pCO ₂ 29,6 / pO ₂ 34,4 / HCO ₃ 21,3 / BE: - 3,7 AST 25 / ALT 14
5	67	15	-	Recusa de coleta
6	49	-	-	Gasometria venosa: pH 7,27/ pCO ₂ 39,5 / pO ₂ : 50,7 / HCO ₃ 17,4 / BE: -8,2 AST 28 /ALT 19 /DHL 280 / lipase 13
7	59	61	14	Gasometria venosa: pH 7,32/ pCO ₂ 47,2 / pO ₂ : 26,5 / HCO ₃ 21,3 / BE: -1,9 AST 30 / ALT 22 /DHL 244 / lipase 13 /CPK 253
8	41	50	15	Sangue hemolisado

dL: decilitros pCO₂: pressão parcial de oxigênio pO₂: pressão parcial de oxigênio BE: base excess
HCO₃: bicarbonato AST: aspartato transaminase ALT: alanina transaminase
CPK: creatinofosfoquinase DHL: desidrogenase láctica

Ao analisar os sete pacientes (5 do sexo feminino e 2 do sexo masculino) com lactatos acima de 45 mg/dL na primeira coleta, observa-se que todos nasceram por parto cesárea, apenas uma paciente foi prematura (IG 28 2/7 semanas) e essa mesma paciente foi a única que apresentou Apgar abaixo de 7 no primeiro minuto. Cinco receberam profilaxia neonatal somente com AZT e duas crianças receberam AZT e NVP. Duas mães apresentavam carga viral

indetectável no terceiro trimestre de gestação, quatro tinham viremia baixa (54 a 545 cópias/ml) e uma chegou ao fim da gestação com carga viral de 23.195 cópias/ml. Há uma diversidade de esquemas de TARV utilizados pelas mães durante a gestação, sendo os antirretrovirais utilizados: AZT, Lamivudina, Nevirapina, Abacavir, Atazanavir/ritonavir, Lopinavir/ritonavir, Tenofovir, Raltegravir, Darunavir/ritonavir e Efavirenz.

Cinco pacientes apresentavam alguma complicação durante a gestação, período peri-parto ou neonatal: uma coinfeção com hepatite C, uma tentativa de aborto, uma infecção por herpes zoster, um traumatismo cranioencefálico no período neonatal com necessidade de uso de fenobarbital e uma paciente com consequências da prematuridade extrema e de ruptura prematura de membranas por 12 dias associado a uma comunicação interatrial e persistência do canal arterial em ecocardiograma neonatal, além de a mãe ter diagnóstico de diabetes gestacional. Uma paciente não tinha história de complicações, porém mãe referiu em consulta ambulatorial dificuldades na coleta do lactato com diversas tentativas de punção.

O paciente que apresentou elevado valor de lactato (50 mg/dL) apenas na segunda amostra também tem história de complicações: mãe com diabetes e hipertensão e paciente nasceu após sofrimento fetal agudo com baixo peso e pequeno para idade gestacional.

Os pacientes com lactato acima de 45 mg/dL também não apresentaram nenhuma manifestação clínica, assim como não desenvolveram sinais de acidose láctica durante todo o acompanhamento (Figura 7).

Figura 7- Evolução dos níveis de lactato dos pacientes que apresentaram lactatos > 45 mg/dL.

6.4. Lactato Normal x Lactato Alterado na Primeira Amostra

A comparação entre o grupo de pacientes com lactato “normal” e aqueles que apresentavam lactato “alterado” na primeira coleta do exame e sua associação com características maternas e neonatais estão descritas nas Tabelas 14 e 15.

A única característica que apresentou associação estatisticamente significativa com a alteração de lactato foi o tipo de parto. Vinte pacientes entre os 23 pacientes (87%) com alteração de lactato na primeira amostra nasceram por via de parto cesárea, enquanto apenas 13% dos pacientes nascidos por parto via vaginal apresentavam lactatos alterados ($p = 0,046$).

Embora outras associações não tenham apresentado significância estatística, alguns dados são interessantes como a maior frequência de pacientes com lactatos alterados (comparados ao número de pacientes com lactato normal) entre as seguintes variáveis:

- Idade materna ≥ 35 anos (21,7% x 7,7%; $p=0,385$)
- exposição a TARV materna durante a gestação (91,3% x 76,9%; $p=0,278$)
- Exposição durante a gestação aos antirretrovirais: AZT (47,8% x 30,8%; $p= 0,319$), Abacavir (8,7% x 0%; $p= 0,525$), Nevirapina (13% x 0%; $p= 0,288$), Efavirenz (13% x 7,7%; $p> 0,999$)
- Coinfecção materna (22,7% x 8,3%; $p=0,389$)
- Hipertensão materna (18,2% x 7,7%; $p=0,630$)
- Diabetes materna (9,1% x 0%; $p= 0,519$)
- Complicações no parto (13% x 0%; $p=0,288$)
- Asfixia neonatal no 1º minuto (22,7% x 16,7%; $p > 0,999$)
- Peso do bebê ao nascimento $< 2,5$ Kg (31,8% x 15,4%; $p= 0,431$).

Tabela 14- Descrição das características maternas e da gestação segundo grupos de lactato e resultado dos testes estatísticos.

1º Lactato			
Variável	Normal (N = 13)	Alterado (N = 23)	p
Idade materna (anos)			0,774**
média ± DP	28,5 ± 4,5	29 ± 6,4	
mediana (mín.; máx.)	27 (23; 38)	31 (19; 39)	
Idade ≥ 35 anos, n (%)			0,385*
Não	12 (92,3)	18 (78,3)	
Sim	1 (7,7)	5 (21,7)	
TARV durante gestação, n (%)			0,278#
Não	1 (7,7)	0 (0)	
Sim	10 (76,9)	21 (91,3)	
Irregular	2 (15,4)	2 (8,7)	
Tempo de TARV materna, n (%)			0,388#
Início na gestação	6 (50)	8 (34,8)	
1 a 4 anos	1 (8,3)	6 (26,1)	
5 anos ou +	5 (41,7)	9 (39,1)	
Início TARV na gestação, n (%)			0,716#
Não	7 (53,8)	15 (65,2)	
1º trimestre	3 (23,1)	3 (13)	
2º trimestre	3 (23,1)	5 (21,7)	
TARV durante gestação			
AZT, n (%)			0,319
Não	9 (69,2)	12 (52,2)	
Sim	4 (30,8)	11 (47,8)	
3TC, n (%)			>0,999*
Não	0 (0)	1 (4,3)	
Sim	13 (100)	22 (95,7)	
ABC, n (%)			0,525*
Não	13 (100)	21 (91,3)	
Sim	0 (0)	2 (8,7)	
TDF, n (%)			0,319
Não	4 (30,8)	11 (47,8)	
Sim	9 (69,2)	12 (52,2)	
NVP, n (%)			0,288*
Não	13 (100)	20 (87)	
Sim	0 (0)	3 (13)	
EFZ, n (%)			>0,999*
Não	12 (92,3)	20 (87)	
Sim	1 (7,7)	3 (13)	
ATZ/R, n (%)			0,693*
Não	9 (69,2)	18 (78,3)	
Sim	4 (30,8)	5 (21,7)	
DRV/R, n (%)			0,609*
Não	11 (84,6)	21 (91,3)	
Sim	2 (15,4)	2 (8,7)	

(continua na próxima página)

Teste qui-quadrado; * Teste exato de Fisher; # Teste da razão de verossimilhanças; ** Teste t-Student; £ Teste Mann-Whitney TARV: terapia antirretroviral; AZT: Zidovudina; 3TC: Lamivudina ABC: Abacavir TDF: Tenofovir NVP: Nevirapina EFZ: Efavirenz; ATZ/r: Atazanavir/Ritonavir; DRV/r: Darunavir/Ritonavir; LPV/r: Lopinavir/Ritonavir; RAL: Raltegravir; mín: mínimo máx: máximo DP: desvio padrão; n: número

Tabela 14 (**continuação**) - Descrição das características maternas e da gestação segundo grupos de lactato e resultado dos testes estatísticos.

LPV/R, n (%)			0,923
Não	7 (53,8)	12 (52,2)	
Sim	6 (46,2)	11 (47,8)	
RAL, n (%)			0,328*
Não	10 (76,9)	21 (91,3)	
Sim	3 (23,1)	2 (8,7)	
Carga viral			0,795£
média ± DP	2437,5 ± 4839,6	4894,5 ± 16545,1	
mediana (mín.; máx.)	0 (0; 12758)	53 (0; 77107)	
Log carga viral			0,745£
média ± DP	1,3 ± 1,8	1,4 ± 1,6	
mediana (mín.; máx.)	0 (0; 4,1)	1,7 (0; 4,9)	
CD4			0,379£
média ± DP	564,5 ± 351,3	668,4 ± 268,9	
mediana (mín.; máx.)	497 (80; 1344)	674 (163; 1344)	
% CD4			0,327£
média ± DP	29 ± 10,4	32,3 ± 8,2	
mediana (mín.; máx.)	27,6 (13; 43,3)	33 (13,4; 45)	
CD4 categorizado, n (%)			0,222#
> 500 céls.	6 (46,2)	17 (73,9)	
200 - 500 céls.	5 (38,5)	5 (21,7)	
< 200 céls.	2 (15,4)	1 (4,3)	
Tabagismo, n (%)			0,131*
Não	11 (84,6)	22 (100)	
Sim	2 (15,4)	0 (0)	
Alcool, n (%)			>0,999*
Não	12 (92,3)	21 (95,5)	
Sim	1 (7,7)	1 (4,5)	
Drogas, n (%)			>0,999*
Não	12 (92,3)	21 (95,5)	
Sim	1 (7,7)	1 (4,5)	
Co-infecção, n (%)			0,389*
Não	11 (91,7)	17 (77,3)	
Sim	1 (8,3)	5 (22,7)	
Hipertensão na gestação, n (%)			0,630*
Não	12 (92,3)	18 (81,8)	
Sim	1 (7,7)	4 (18,2)	
Diabetes na gestação, n (%)			0,519*
Não	13 (100)	20 (90,9)	
Sim	0 (0)	2 (9,1)	
Outras comorbidades na gestação, n (%)			>0,999*
Não	12 (92,3)	20 (90,9)	
Sim	1 (7,7)	2 (9,1)	

Teste qui-quadrado; * Teste exato de Fisher; # Teste da razão de verossimilhanças; ** Teste t-Student; £ Teste Mann-Whitney

TARV: terapia antirretroviral; AZT: Zidovudina; 3TC: Lamivudina ABC: Abacavir TDF: Tenofovir NVP: Nevirapina EFZ: Efavirenz; ATZ/r: Atazanavir/Ritonavir; DRV/r: Darunavir/Ritonavir; LPV/r: Lopinavir/Ritonavir; RAL: Raltegravir; mín: mínimo máx: máximo DP: desvio padrão; n: número

Tabela 15- Descrição das características do parto e do RN segundo grupos de lactato e resultado dos testes estatísticos.

Variável	1º Lactato		p
	Normal (N = 13)	Alterado (N = 23)	
Tipo de parto, n (%)			0,046*
Normal	6 (46,2)	3 (13)	
Cesárea	7 (53,8)	20 (87)	
Complicações no parto, n (%)			0,288*
Não	13 (100)	20 (87)	
Sim	0 (0)	3 (13)	
AZT durante parto, n (%)			>0,999*
Não	1 (7,7)	2 (8,7)	
Sim	12 (92,3)	21 (91,3)	
Idade gestacional (semanas)			0,192**
média ± DP	38,5 ± 1,4	37,4 ± 2,7	
mediana (mín.; máx.)	38,6 (35,7; 40,3)	38,4 (28,3; 40)	
Idade gestacional (semanas), n (%)			0,689*
< 37	2 (15,4)	5 (22,7)	
37 ou +	11 (84,6)	17 (77,3)	
Sexo, n (%)			0,549
Feminino	6 (46,2)	13 (56,5)	
Masculino	7 (53,8)	10 (43,5)	
Apgar 1º minuto			0,631£
média ± DP	8,4 ± 1,4	8,3 ± 1,2	
mediana (mín.; máx.)	9 (5; 10)	9 (5; 10)	
Asfixia 1º minuto, n (%)			>0,999*
Não	10 (83,3)	17 (77,3)	
Sim	2 (16,7)	5 (22,7)	
Apgar 5º minuto			0,403£
média ± DP	9,7 ± 0,5	9,5 ± 0,6	
mediana (mín.; máx.)	10 (9; 10)	9,5 (8; 10)	
Peso ao nascer (Kg)			0,142**
média ± DP	3,1 ± 0,6	2,7 ± 0,7	
mediana (mín.; máx.)	2,8 (2,2; 4,2)	2,8 (1,2; 3,8)	
ARV período neonatal, n (%)			0,107*
AZT	8 (61,5)	20 (87)	
AZT+NVP	5 (38,5)	3 (13)	
Peso ao nascer < 2,5 kg, n (%)			0,431*
Não	11 (84,6)	15 (68,2)	
Sim	2 (15,4)	7 (31,8)	
Comprimento ao nascer (cm)			0,170**
média ± DP	47,4 ± 2,4	46 ± 3,1	
mediana (mín.; máx.)	47 (44; 52)	46,3 (37,5; 50)	
Perímetro cefálico ao nascer (cm)			0,143**
média ± DP	34,8 ± 2,3	33,4 ± 2,4	
mediana (mín.; máx.)	34,3 (31; 38)	33,5 (27,5; 37)	

Teste qui-quadrado; * Teste exato de Fisher; # Teste da razão de verossimilhanças; ** Teste t-Student; £ Teste Mann-Whitney

AZT: Zidovudina mín: mínimo máx: máximo DP: desvio padrão n: número

7. DISCUSSÃO

No período de 03 de novembro de 2015 a 03 de novembro de 2017, 53 crianças expostas ao HIV durante a gestação iniciaram acompanhamento no ambulatório de Infectologia Pediátrica do Instituto da Criança. Destas, apenas uma foi diagnosticada com infecção pelo HIV durante o acompanhamento, resultando em uma taxa de transmissão vertical de 1,88%. Esse dado é semelhante a taxa brasileira de 1,9% do ano de 2018 divulgada no último Boletim Epidemiológico HIV/AIDS publicado pelo Ministério da Saúde².

Ao todo foram coletadas 87 amostras de lactato entre os 36 pacientes incluídos no estudo. Trinta e sete destas amostras (42,5%) foram consideradas alteradas e a grande maioria das alterações (23/36 coletas iniciais de lactato – 63,9%) ocorreu durante as primeiras semanas de vida dos pacientes (média de oito semanas).

A prevalência de lactatos alterados entre os estudos é variável (3,4% a 92%), dependendo do valor de referência utilizado como padrão de normalidade. Alimenti e cols²³ e Soler-Palacín e cols⁶⁴ utilizando como pontos de corte valores de lactato > 19 mg/dL, relataram prevalências altas de 92% e 56,4% respectivamente. Já Noguera e cols²⁴, Ekouevi e cols²⁵ e Crain e cols²⁶ encontraram prevalências de 49,6%, 13,4% e 3,4% nas populações estudadas, utilizando valores de referências de 22 mg/dL, 22,5 mg/dL e 27 mg/dL respectivamente.

No nosso estudo, se tivéssemos utilizado o ponto de corte de 27 mg/dL, teríamos encontrado 17 amostras alteradas (prevalência geral de 19,5%), uma taxa ainda alta quando comparada ao estudo de Crain e cols²⁶. Quinze dessas alterações seriam encontradas na primeira amostra, dois na segunda e nenhum na terceira coleta.

Além da variação no valor de referência de lactato, também há diferença na definição de hiperlactatemia entre as publicações. Ekouevi e cols²⁵ definiram hiperlactatemia como a presença de dois ou mais lactatos com valores alterados. Noguera e cols²⁴ e Soler-Palacín e cols⁶⁴ só consideraram alteração no valor de lactato quando o nível de alanina sérica também apresentava alteração. Nosso estudo, assim como os realizados por Alimenti e cols²³ e Crain e cols²⁶ apenas identificou os lactatos acima do valor de referência.

Outro fator importante é a variação do momento das coletas de lactato. Alguns autores como Alimenti e cols²³, Ekouevi e cols²⁵ coletaram a primeira amostra com poucas semanas de vida (2 semanas e 4 semanas respectivamente), enquanto Noguera e cols²⁴ iniciaram a pesquisa de hiperlactatemia com 6 semanas de idade e Crain e cols²⁶ coletaram a amostra em momento de consulta ambulatorial independentemente da idade do paciente nesse momento.

Todos esses fatores justificam a variedade de prevalência de hiperlactatemia entre os autores. Nosso estudo também apresenta diferenças em relação a essas variáveis, porém encontramos uma prevalência elevada de 42,5% e que está na faixa de variação entre as publicações (3,4% a 92%).

Embora esses estudos tenham demonstrado diferenças entre a prevalência de alteração do nível de lactato nas populações estudadas, a maioria dos autores^{23–25,64} relatam normalização espontânea nas coletas subsequentes.

Alimenti e cols²³ observaram normalização em 94% dos pacientes até o sétimo mês de vida. Com um ano de idade, Noguera e cols²⁴ e Soler-Palacín e cols⁶⁴ encontraram que 70% e 76% dos pacientes evoluíram com lactatos

normais e aproximadamente 89% dos pacientes com lactato alterado de Ekouevi e cols²⁵ apresentaram redução do lactato para níveis considerados normais já com 6 meses de vida.

Nossos dados demonstram que 63% dos pacientes já apresentavam valores normais de lactato na segunda amostra coletada com média de aproximadamente 5 meses de idade. Na terceira coleta, apenas um paciente entre os que apresentavam alteração na primeira amostra, mantinha lactato alterado.

Crain e cols²⁶ não observaram diferenças entre grupos etários na prevalência de alteração de lactato, porém maiores concentrações séricas foram encontradas em crianças menores de seis meses (17 mg/dL em menores de 6 meses e 15,3 mg/dL em crianças de 6 meses a 24 meses de idade). Esse fato também foi observado nos pacientes do nosso estudo, onde a concentração média de lactato inicial foi de 29,4 mg/dL, com queda para médias de concentração de 18,3 e 16,3 mg/dL nas 2ª e 3ª coletas de lactato.

Assim, nota-se que além de redução da prevalência de hiperlactatemia conforme o aumento da idade, há também diminuição dos valores médios de lactato. De forma semelhante ao nosso estudo, Noguera e cols²⁴ encontraram média de lactato de 25 mg/dL aos três meses de vida, com queda para 15,4 mg/dL aos 12 meses.

Quanto a presença de hiperlactatemia grave (lactato > 45 mg/dL), foi observado uma prevalência de 24% em nosso estudo, com os lactatos variando entre 47 mg/dL e 67 mg/dL. Esse dado é bastante semelhante ao encontrado por Alimenti e cols²³ que encontraram 26% de lactatos $\geq$ 45 mg/dL, com níveis entre 45 mg/dL e 66 mg/dL. Porém, diferentemente dos nossos

pacientes que estavam todos assintomáticos, duas entre essas crianças com hiperlactatemia grave avaliadas por Alimenti e cols²³ apresentaram quadro de irritabilidade e vômito com duas semanas de vida. Interessantemente, houve melhora dos sintomas duas semanas após a suspensão da profilaxia oral com AZT assim como queda do lactato no mesmo período.

A presença de manifestações clínicas decorrentes de disfunção mitocondrial em pacientes expostos ao HIV durante a gestação e não infectados tem sido motivo de bastante preocupação desde as publicações de Blanche e cols⁶⁰ e Barret e cols⁶¹, que descreveram uma série de doze casos graves (incluindo dois óbitos), com alguns apresentando aumento de lactato sérico.

Nenhum dos pacientes acompanhados no nosso serviço, mesmo aqueles com hiperlactatemia classificada como grave, apresentou algum sinal ou sintoma durante todo o seguimento. Algumas publicações^{25,62,71-73} também não observaram paciente sintomáticos graves ou mortalidade associada à disfunção mitocondrial induzida por ITRN. Entretanto, alguns outros autores encontraram poucos pacientes sintomáticos em suas pesquisas. No artigo publicado por Noguera e cols²⁴, são relatados três casos com sintomas neurológicos em crianças expostas à TARV materna e no período neonatal, sendo um caso de hipotonia axial, outro de espasticidade moderada de membros inferiores associado à hipotonia axial e retenção dos reflexos primitivos e o terceiro com espasticidade de membros superiores com adução de polegares e dificuldade de sentar sem apoio. Os três pacientes apresentaram aumento de lactato no momento de quadro clínico, porém apenas um com lactato maior que 45 mg/dL. Todos evoluíram com melhora

clínica, sem presença de sequelas e com normalização do nível de lactato. Soler-Palacín e cols⁶⁴ observaram cinco pacientes com manifestações neurológicas, principalmente hipertonia de membros inferiores e, destes, apenas um manteve sequelas com um ano de idade. Esses mesmos autores relatam um caso com um certo grau de atraso de desenvolvimento neuropsicomotor.

É importante ressaltar que a maioria dos pacientes sintomáticos descritos por Soler-Palacín e cols⁶⁴ e Noguera e cols²⁴ tinham outros fatores de risco como prematuridade, asfixia neonatal e uso materno de drogas ou outras medicações (como benzodiazepínicos por exemplo) durante a gestação que poderiam justificar as manifestações clínicas relatadas. Esses fatores de risco associado a outras características maternas, neonatais e à própria exposição a uma infecção crônica são extremamente importantes para avaliarmos a presença de hiperlactatemia nos pacientes expostos ao HIV e terapia antirretroviral materna e neonatal, já que todas essas variáveis podem influenciar nas alterações de lactato.

Em nosso estudo não houve correlação do aumento de lactato inicial com características maternas como idade, carga viral de HIV e contagem de CD4 no terceiro trimestre de gestação, presença de coinfeção ou comorbidades (hipertensão, diabetes ou outras), tempo de uso de TARV pela mãe e uso de AZT durante o trabalho de parto. Características do bebê como sexo, idade gestacional de nascimento, Apgar no primeiro e quinto minutos, comprimento e peso ao nascimento e esquema de antirretroviral utilizado na profilaxia neonatal também não mostraram associação com a alteração na primeira amostra de

lactato. Essa ausência de correlação com variáveis maternas e neonatais também foi observado por diversos outros autores^{23-25,64}.

Em relação ao uso de drogas durante a gestação, houve poucos casos relatados na nossa população estudada (2 casos de tabagismo, 2 de uso de álcool e 2 com uso de drogas ilícitas como heroína, crack, maconha e cocaína). Não houve associação da hiperlactatemia com o uso de drogas ilícitas ou álcool, porém surpreendentemente houve correlação estatisticamente significativa ($p=0,04$) do tabagismo materno com menor nível sérico de lactato. Isso pode ser justificado pelo pequeno número de relatos de tabagismo durante a gestação ($n=2$) e pelo fato de não ter sido realizada uma análise multivariada para confirmar esse achado. Além disso, é importante ressaltar que a informação do uso de drogas foi obtida por questionário direto com os pais ou responsáveis, o que pode gerar uma inibição na resposta afirmativa ao uso de drogas ilícitas.

Não houve também correlação entre aumento de lactato sérico e uso materno de drogas no estudo realizado por Noguera e cols²⁴ e embora tenha sido identificado que os pacientes sintomáticos de Alimenti e cols²³ e Ekouevi e cols²⁵ tinham sido expostos a drogas durante a gestação, a análise estatística dos dados nesses dois estudos não demonstraram associação estatisticamente significativa.

No nosso estudo verificamos que os bebês os quais as mães fizeram uso de esquema antirretroviral contendo dois ITRN associado a Nevirapina ou Efavirenz e aqueles que receberam como profilaxia neonatal Zidovudina e Nevirapina, apresentaram lactatos $> 19\text{mg/dL}$ em pelo menos uma das amostras coletadas durante o seguimento ($p=0,441$). Ainda quanto ao tipo

antirretroviral utilizado, observamos maiores médias de lactato em pacientes expostos ao Abacavir durante a gestação, embora esse dado também não tenha sido estatisticamente significativo.

Em um estudo realizado no ano de 2000, Kakuda e cols³⁵ demonstraram in vitro que alguns antirretrovirais podem ter mais influência sob a gama-DNA polimerase e ocasionar disfunção mitocondrial com maior frequência. Em sua pesquisa, encontraram que a Zalcitabina (não mais disponível para uso clínico), Didadosina e Estavudina seriam as drogas com maiores potenciais para alteração na funcionalidade da mitocôndria seguidas de Lamivudina, AZT e Abacavir, porém ressaltando que o Abacavir apresentou in vitro pouca ação sob a gama-DNA polimerase.

Margolis e cols⁷⁴ em uma revisão sobre toxicidade dos antirretrovirais nos pacientes com infecção por HIV também observaram que Zalcitabina, Didadosina e Estavudina são as drogas com maior potencial para disfunção mitocondrial. Abacavir, Lamivudina, Tenofovir e Emcitabina tiveram baixa associação com efeitos adversos relacionados a mitocondrial, enquanto o AZT demonstrou algum grau com toxicidade mitocondrial.

Em relação aos estudos realizados em pacientes expostos a TARV materna durante a gestação, a maioria dos autores^{23,25,64} não encontrou relação entre o tipo de antirretroviral utilizado pela mãe e o aumento de lactato (que indiretamente pode indicar disfunção mitocondrial em paciente assintomático). Entretanto, alguns autores observaram associações. Noguera e cols²⁴ correlacionaram uso materno de Didadosina durante a gestação com hiperlactatemia. Já Ibieta e cols²⁷ encontram menor frequência de hiperlactatemia nos pacientes expostos à Didadosina e, assim como nosso

estudo, maior frequência de hiperlactatemia nos pacientes expostos ao Abacavir nas análises de lactato realizadas com 6 semanas e 3 meses de idade. Crain e cols²⁶, além de observarem associação entre crianças com aumento de lactato sérico e o uso materno de Emcitabina no primeiro trimestre de gestação, também encontraram hiperlactatemia nos pacientes expostos a Efavirenz no segundo ou terceiro trimestre.

A infecção crônica pelo HIV também é um dos fatores que podem justificar a hiperlactatemia nas primeiras semanas de vida nas crianças expostas ao HIV durante a gestação. Estudos demonstram que as proteínas do HIV podem induzir disfunção mitocondrial através de mecanismos de ativação da via intrínseca de apoptose e alteração na permeabilidade da membrana externa da mitocôndria⁷⁵.

Em seu estudo, Noguera e cols²⁴ compararam os lactatos dos pacientes expostos ao HIV durante a gestação com um grupo controle formado por crianças saudáveis, não expostas ao HIV e que estavam realizando exames pré-operatórios. O grupo dos pacientes expostos ao HIV apresentou maiores níveis de lactato em todos os momentos de coleta comparado ao grupo controle. Entretanto, é importante destacar que a maioria dos pacientes do grupo dos expostos ao HIV também haviam sido expostos a esquema antirretroviral durante a gestação.

Para verificar a influência da TARV e do papel da exposição a infecções crônicas durante a gestação, Soler-Palacín e cols⁶⁴ compararam os níveis séricos de lactato de dois grupos: um exposto ao HIV e outro exposto a hepatite C. A frequência de hiperlactatemia foi semelhante em ambos (56,4% e

57,5%) assim como a presença de manifestações neurológicas observadas durante o estudo.

Outro estudo interessante é o realizado por Ekouevi e cols²⁵ que comparou o lactato sérico de três grupos de pacientes: dois grupos haviam sido expostos a ITRN durante a gestação, trabalho de parto e período neonatal e um grupo controle que foi exposto apenas à Nevirapina durante o trabalho de parto e período neonatal. Ambos os grupos apresentaram taxas equivalentes de hiperlactatemia (13,1% e 14,3% respectivamente), demonstrando o impacto da exposição à infecção crônica por HIV, a outras classes de antirretrovirais (e não só ao ITRN) e vieses na coleta de lactato.

Fatores como estase venosa causada pelo torniquete, estado de não jejum no momento da coleta, manipulação inadequada e demora para o processamento da amostra podem influenciar nos resultados do lactato.

No presente estudo, embora a amostra tenha sido processada imediatamente após a coleta, não foi possível evitar outros vieses. Todos as crianças fizeram uso de torniquete para a punção venosa e jejum não foi orientado a nenhum paciente. Esses fatores podem ter influenciado nas alterações dos níveis séricos de lactato. Um exemplo é uma das pacientes com lactato de 60 mg/dL na primeira amostra coletada, cuja mãe relatou espontaneamente em uma consulta ambulatorial sobre a dificuldade de punção venosa para a coleta dessa amostra. O segundo lactato dessa paciente foi coletado sem dificuldade de punção e estava dentro do padrão de normalidade (10 mg/dL).

Alguns dos autores já citados nesse trabalho usaram diversas técnicas para tentar diminuir esses vieses. Além de excluírem os pacientes com alguma

outra condição que cursem com hiperlactatemia, Noguera e cols²⁴ também excluíram todas as amostras coletadas de modo inadequado. Para a análise dos dados, só foram considerados casos de hiperlactatemia, aqueles que tinha aumento de lactato acima do valor de referência associado a aumento alanina sérica.

A alanina é um aminoácido não-essencial que está sob diferentes formas no organismo humano. Em tecidos que demandam energia faz parte do complexo da coenzima A e é importante para o metabolismo de ácidos graxos e do ciclo de Krebs⁷⁶. Sua sensibilidade para diagnóstico de disfunção mitocondrial é baixa, porém diferentemente do lactato, alterações decorrentes da coleta inapropriada de alanina são incomuns⁷⁷. Assim, o aumento da alanina sérica poderia confirmar a verossimilhança do aumento de lactato.

Soler-Palacín e cols⁶⁴ também definiram hiperlactatemia apenas quando a alteração de nível sérico de lactato estava associado ao aumento de alanina sérica. Nesse estudo, foi observado que 91% dos lactatos eram alterados. Quando avaliado o nível sérico de alanina, a prevalência de hiperlactatemia caiu para 57%.

Ekouevi e cols²⁵ não realizaram a coleta de alanina sérica, porém para evitar o viés da coleta definiram hiperlactatemia quando duas ou mais amostras subsequentes de lactato estavam acima do valor de referência. Esses autores encontraram menor prevalência de lactatos alterados (13,1%), mas é preciso levar em consideração que esse grupo utilizou ponto de corte mais alto como valor de referência do lactato $\geq 22,5$ mg/dL) e a população estudada foi exposta por apenas um curto período aos antirretrovirais durante a gestação.

Crain e cols²⁶ obtiveram a menor prevalência de hiperlactatemia (3,4%) entre os estudos publicados, utilizando uma técnica “point-of-care” para a coleta de lactato. Assim, teoricamente não teriam os vieses da coleta como influência para o resultado do exame. Entretanto, autores definiram um corte bem maior (> 27 mg/dL) como referência para lactato alterado e, portanto, a menor prevalência pode também ter relação com esse fato.

Infelizmente, no nosso estudo não foi realizada a dosagem de alanina para a confirmação dos casos de lactato alterado. Também não incluímos para a definição de hiperlactatemia a necessidade de duas amostras em sequência alteradas, mas para todo paciente com lactato alterado, foi solicitada uma nova amostra. Além disso, a mesma técnica de coleta foi utilizada para todos os pacientes em todas as amostras e notamos que a prevalência de hiperlactatemia foi maior apenas na primeira amostra, com posterior normalização nas coletas subsequentes.

Algumas outras limitações do nosso estudo foram: pequeno número de pacientes na população estudada (por sermos um serviço ambulatorial terciário), dificuldade no seguimento dos pacientes (por faltas nas consultas ambulatoriais ou nas coletas de exames) e ausência de dados sobre outras medicações administradas para a mãe durante a gestação.

O pequeno número de pacientes incluídos no estudo também pode ser a justificativa de resultados sem significância estatística na análise para comparação entre os grupos de pacientes com lactato normal e alterado na primeira coleta do exame.

Apesar dessas limitações, nossos resultados são semelhantes àqueles encontrados por outros autores em maiores populações. Além disso, é um

estudo prospectivo, onde pudemos acompanhar os pacientes em consultas ambulatoriais de rotina e consultas extras quando necessário, avaliar o desenvolvimento neuropsicomotor e a presença de sinais/sintomas.

Ao que sabemos, nosso estudo é o primeiro a avaliar o lactato em crianças brasileiras expostas ao HIV e TARV materna e neonatal. Demonstramos que embora tenha sido clara a predominância de hiperlactatemia nas primeiras semanas de vida, com queda dos níveis de lactato sérico ao longo do seguimento, as limitações associadas aos vieses que influenciam nos resultados de lactatos, não permitem relacionar com alto grau de certeza a hiperlactatemia com TARV materna e/ou neonatal. Outros autores também não conseguiram provar essa relação, apesar de tentar reduzir os vieses em seus estudos.

Pesquisas mais recentes⁷⁸⁻⁸¹ com avaliação dos níveis séricos de mtDNA e/ou expressão gênica mitocondrial têm demonstrado algumas evidências de depleção de mtDNA sugerindo disfunção mitocondrial e reduzindo de modo importante os vieses do lactato. Esses novos estudos com mtDNA podem colaborar para a compreensão dos efeitos da TARV materna em pacientes expostos ao HIV não infectados e determinar assim, um melhor acompanhamento para esses pacientes.

8. CONCLUSÕES

Em nosso estudo, encontramos uma alta prevalência de hiperlactatemia (42,5%) entre os pacientes expostos ao HIV e à TARV materna e neonatal. A maioria das amostras alteradas de lactato (63,9%) foram observadas nas primeiras semanas de vida, com posterior normalização nas coletas subsequentes e nenhuma criança apresentou manifestação clínica de toxicidade mitocondrial (mesmo aquelas com hiperlactatemias classificadas como graves) ou necessitou de realização de exames de imagem ou de internação.

Observamos que os pacientes em que as mães fizeram uso de esquema antirretroviral contendo dois ITRN associado a Nevirapina ou Efavirenz e aqueles que receberam como profilaxia neonatal Zidovudina e Nevirapina, apresentaram lactatos > 19mg/dL em pelo menos uma das amostras coletadas durante o seguimento, assim como notamos um nível sérico médio de lactato maior em pacientes expostos ao Abacavir no período gestacional. No entanto essas associações não foram estatisticamente significantes. Não encontramos associação entre a hiperlactatemia e as outras variáveis maternas e infantis.

Esses resultados sugerem que não há benefício na coleta de lactato como triagem de disfunção mitocondrial nessas crianças expostas ao HIV durante a gestação e não infectadas, porém é crucial que elas mantenham seguimento em ambulatório especializado para avaliação clínica cuidadosa de rotina.

ANEXO 1: Questionário para coleta de dadosDados do recém-nascido

Nome:

RH:

Data de nascimento:

Sexo ☐ feminino ☐ masculino

Idade gestacional:

Peso de nascimento ☐ < 1.500 g ☐ 1.500 – 2.500 g ☐ > 2.500 g

Comprimento ao nascer: _____ PC nascimento _____

Apgar 1º minuto _____ 5º minuto _____

ARV período neonatal: ☐ Nevirapina ☐ AZT☐ outras. Quais? _____Dados maternos

Nome:

RH:

Data de nascimento:

TARV durante gestação ☐ 1º trimestre ☐ 2º trimestre ☐ 3º trimestre

Qual? _____

CV no 3º trimestre de gestação: ☐ indetectável ☐ detectável _____CD4 no 3º trimestre de gestação: ☐ < 200 ☐ 200-349 ☐ 350-499 ☐ >500Uso de drogas durante gestação: ☐ cigarro ☐ álcool ☐ heroína ☐ crack☐ maconha ☐ cocaína ☐ outras drogas. Quais? _____Coinfecção ☐ hepatite B ☐ hepatite C ☐ CMV ☐ toxoplasmose☐ sífilis ☐ outras _____Tipo de parto: ☐ normal ☐ cesárea ☐ fórceps

Complicações na gestação:

Complicações no parto:

Recebeu AZT durante o parto: ☐ sim ☐ nãoAmamentação ☐ não ☐ sim Qto tempo _____

Anexo 2: documento de aprovação da pesquisa

FACULDADE DE MEDICINA
 da Universidade de São Paulo

Departamento de Pediatria

PROJETO DE PESQUISA

Título: "AVALIAÇÃO DOS POSSÍVEIS EFEITOS SECUNDÁRIOS AO HIV E TERAPIA ANTIRRETROVIRAL (TARV) EM CRIANÇAS EXPOSTAS HIV, PORÉM NÃO INFECTADAS". De autoria: DRA. CAMILA SANSONI YOSHINO DE PAULA, GIULIANA STRAVINSKAS DURIGON E HELOÍSA HELENA DE SOUZA MARQUES.

PARECER C.P.E. Nº.: 1227/17/2015

Orientações ao Relator da Comissão de Pesquisa

O relator da Comissão de Pesquisa, ao receber o Projeto de Pesquisa, deverá proceder às seguintes análises:

- Analisar o Projeto do ponto de vista metodológico
- Apresentar o Relatório na Reunião da Comissão de Pesquisa e Ética

RELATOR DA COMISSÃO DE PESQUISA:

• **Análise Metodológica:**
*Faz-se de um estudo prospectivo
 de avaliação de possíveis efeitos adversos
 à terapêutica antirretroviral.
 A metodologia é correta e adequada
 a natureza do estudo.*

☐ DEVOLUÇÃO AO AUTOR
☐ APROVADO COM EXIGÊNCIAS
 Data: ____/____/20____
 Assinatura e Carimbo do Relator:

☒ **APROVADO**
 Data: *26*/06/2015
 Assinatura e Carimbo do Relator: *Dra. Ana Paula M. Castro*
 CRM 68.748
 CIES 5063167
 CNS 180902854010907

APROVAÇÃO CPE:
[Assinatura]
Prof. Uenis Tassuri
 Presidente da Comissão de Pesquisa e Ética
 Departamento de Pediatria - FMUSP
 Data: 01/06/2015

2

APROVADO PELO CONSELHO DO
 DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA FMUSP
 EM 19/06/15

Prof.^a Sandra Josefina Ferraz Elleró Grisí
 Chefe
 Departamento de Pediatria FMUSP

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization WHO. Data and statistics [Internet].
[cited 2020 Jan 8]. Available from: <https://www.who.int/hiv/data/en/>
2. Boletim Epidemiológico de HIV/Aids 2019. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis [Internet].
[cited 2020 Jan 8]. Available from: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2019/boletim-epidemiologico-de-hivaid-2019>
3. World Health Organization WHO. HIV Country Profiles [Internet]. [cited 2020 Jan 21]. Available from: <http://cfs.hivci.org/country-factsheet.html>
4. Blanche S, Rouzioux C, Moscato MLG, Veber F, Mayaux MJ, Jacomet C, et al. A Prospective Study of Infants Born to Women Seropositive for Human Immunodeficiency Virus Type 1. *N Engl J Med*. 1989;320(25):1643-8.
5. Blanche S. Mini review: Prevention of mother–child transmission of HIV: 25 years of continuous progress toward the eradication of pediatric AIDS? *Virulence*. 2020;11(1):14-22.
6. Luzuriaga K, Mofenson LM. Challenges in the Elimination of Pediatric HIV-1 Infection. *Campion EW, editor. N Engl J Med*. 2016;374(8):761-70.
7. Bispo S, Chikhungu L, Rollins N, Siegfried N, Newell ML. Postnatal HIV transmission in breastfed infants of HIV-infected women on ART: A systematic review and meta-analysis. *J Int AIDS Soc*. 2017;20(1):21251.
8. Waitt C, Low N, Van de Perre P, Lyons F, Loutfy M, Aebi-Popp K. Does U=U for breastfeeding mothers and infants? Breastfeeding by mothers on effective treatment for HIV infection in high-income settings. *Lancet HIV*. 2018;5(9):e531-e536.

9. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ, et al. Reduction of Maternal-Infant Transmission of Human Immunodeficiency Virus Type 1 with Zidovudine Treatment. *N Engl J Med*. 1994;331(18):1173-80.
10. Broder S. Twenty-five years of translational medicine in antiretroviral therapy: Promises to keep. *Sci Transl Med*. 2010;2(39):39ps33.
11. Townsend CL, Byrne L, Cortina-Borja M, Thorne C, de Ruiter A, Lyall H, Taylor GP, Peckham CS, Tookey PA. Earlier initiation of ART and further decline in mother-to-child HIV transmission rates, 2000-2011. *AIDS*. 2014;28(7):1049-57.
12. Recommendations for the Use of Antiretroviral Drugs in Pregnant Women with HIV Infection and Interventions to Reduce Perinatal HIV Transmission in the United States What's New in the Guidelines[Internet]. [cited 2020 Jan 8]. Available from: <http://clinicalinfo.hiv.gov>
13. UNAIDS. Communities at the Centre Defending Rights Breaking Barriers Reaching People With HIV Services, Global AIDS Update 2019. [Internet]. [cited 2020 Jan 8]. Available from: <https://genderandaids.unwomen.org/en/resources/2019/12/2019-global-aids-update>
14. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Crianças e Adolescentes. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, HIV/Aids e Hepatites Virais [Internet]. 2018 [citado 2019 Fev 8].

- Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2017/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-manejo-da-infeccao-pelo-hiv-em-criancas-e>
15. UNAIDS. Fact sheet - Latest global and regional statistics on the status of the AIDS epidemic[Internet]. [cited 2020 Jan 8]. Available from: http://https://www.unaids.org/en/resources/documents/2020/UNAIDS_FactSheet
 16. Ramokolo V, Goga AE, Lombard C, Doherty T, Jackson DJ, Engebretsen IM. In Utero ART Exposure and Birth and Early Growth Outcomes Among HIV-Exposed Uninfected Infants Attending Immunization Services: Results From National PMTCT Surveillance, South Africa. *Open Forum Infect Dis*. 2017;4(4):ofx187.
 17. Heidari S, Mofenson L, Cotton MF, Marlink R, Cahn P, Katabira E. Antiretroviral drugs for preventing mother-to-child transmission of HIV: a review of potential effects on HIV-exposed but uninfected children. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011;57(4):290-6.
 18. Newell M-L, Bunders MJ. Safety of antiretroviral drugs in pregnancy and breastfeeding for mother and child. *Curr Opin HIV AIDS*. 2013;8(5):504-10.
 19. Ivy W, Nesheim SR, Paul SM, Ibrahim AR, Chan M, Niu X, Lampe MA. Cancer among children with perinatal exposure to HIV and antiretroviral medications - New Jersey, 1995-2010. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2015; 70(1):62-6.
 20. Siberry GK, Williams PL, Mendez H, Seage III GR, Jacobson DL, Hazra R, Rich KC, Griner R, Tassiopoulos K, Kacanek D, Mofenson LM, Miller

- T, DiMeglio LA, Watts DH; Pediatric HIV/AIDS Cohort Study (PHACS).. Safety of Tenofovir Use During Pregnancy: Early Growth Outcomes in HIV-Exposed Uninfected Infants. *AIDS*. 2012;26(9):1151-9.
21. Siberry GK, Jacobson DL, Kalkwarf HJ, Wu JW, Dimeglio LA, Yogev R, Knapp KM, Wheeler JJ, Butler L, Hazra R, Miller TL, Seage GR 3rd, Van Dyke RB, Barr E, Davtyan M, Mofenson LM, Rich KC; Pediatric HIV/AIDS Cohort Study. Lower Newborn Bone Mineral Content Associated with Maternal Use of Tenofovir Disoproxil Fumarate during Pregnancy. *Clin Infect Dis*. 2015;61(6):996-1003.
22. Ruck C, Reikie BA, Marchant A, Kollmann TR, Kakkar F. Linking susceptibility to infectious diseases to immune system abnormalities among HIV-exposed uninfected infants. *Front Immunol*. 2016;7:310.
23. Alimenti A, Burdge DR, Ogilvie GS, Money DM, Forbes JC. Lactic acidemia in human immunodeficiency virus-uninfected infants exposed to perinatal antiretroviral therapy. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22(9):782-9.
24. Noguera A, Fortuny C, Muñoz-Almagro C, Sanchez E, Vilaseca A, Artuch R, Jimenez R. Hyperlactatemia in Human Immunodeficiency Virus-Uninfected Infants Who Are Exposed to Antiretrovirals. *Pediatrics*. 2004;114(5):e598-603.
25. Ekouevi DK, Touré R, Becquet R, Viho I, Sakarovitch C, Rouet F, Towne-Gold B, Fassinou P, Leroy V, Blanche S, Dabis F; Agence Nationale de Recherches Sur le SIDA 1201/1202 Ditrane Plus Study Group. Serum lactate levels in infants exposed peripartum to antiretroviral agents to prevent mother-to-child transmission of HIV:

- Agence Nationale de Recherches Sur le SIDA et les Hépatites Virales
1209 study, Abidjan, Ivory Coast. *Pediatrics*. 2006;118(4):e1071-7.
26. Crain MJ, Williams PL, Griner R, Tassiopoulos K, Read JS, Mofenson LM, Rich, Pediatric HIV/AIDS Cohort Study. Point of Care Capillary Blood Lactate Measurements in Human Immunodeficiency Virus-uninfected Children with in utero Exposure to Human Immunodeficiency Virus and Antiretroviral Medications. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30(12):1069-74
27. Fernández Ibieta M, Bellón Cano JM, Ramos Amador JT, González-Tomé MI, Guillén Martín S, Navarro Gómez M, de José MI, Beceiro J, Iglesias E, Prieto L, Santos MJ, Guardia NM, Roa MA, Regidor J. Exposición a antirretrovirales y toxicidad mitocondrial en una cohorte de niños no infectados hijos de madres VIH positivas. *An Pediatr*. 2010;73(4):180-8.
28. Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, Hirano M, Koga Y, McFarland R, Suomalainen A, Thorburn DR, Zeviani M, Turnbull DM. Mitochondrial diseases. *Nat Rev Dis Prim*. 2016;2:16080.
29. Duchon MR. Mitochondria in health and disease: Perspectives on a new mitochondrial biology. *Mol Aspects Med*. 2004;25(4):365-451.
30. Vakifahmetoglu-Norberg H, Ouchida AT, Norberg E. The role of mitochondria in metabolism and cell death. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017 ;482(3):426-31.
31. Baynes JW, Dominiczak MH. *Bioquímica médica*. São Paulo: Manole; 2000.

-
32. Brooks GA. The Science and Translation of Lactate Shuttle Theory. *Cell Metab.* 2018;27(4):757-85.
33. Adeva-Andany M, López-Ojén M, Funcasta-Calderón R, Ameneiros-Rodríguez E, Donapetry-García C, Vila-Altesor M, Rodríguez-Seijas J. Comprehensive review on lactate metabolism in human health. *Mitochondrion.* 2014;17:76-100.
34. Leung GPH. Iatrogenic Mitochondriopathies: A Recent Lesson from Nucleoside/Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors. *Adv Exp Med Biol.* 2012;942:347-69.
35. Kakuda TN. Pharmacology of nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitor-induced mitochondrial toxicity. *Clin Ther.* 2000;22(6):685-708.
36. Brinkman K, Kakuda TN. Mitochondrial toxicity of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors: a looming obstacle for long-term antiretroviral therapy? *Curr Opin Infect Dis.* 2000;13(1):5-11.
37. Pinti M, Salomoni P, Cossarizza A. Anti-HIV drugs and the mitochondria. *B Biochim Biophys Acta.* 2006;1757(5-6):700-7.
38. Lewis W, Gonzalez B, Chomyn A, Papoian T. Zidovudine induces molecular, biochemical, and ultrastructural changes in rat skeletal muscle mitochondria. *J Clin Invest.* 1992;89(4):1354-60.
39. Walker UA, Setzer B, Venhoff N. Increased long-term mitochondrial toxicity in combinations of nucleoside analogue reverse-transcriptase inhibitors. *AIDS.* 2002;16(16):2165-73.

-
40. Gerschenson M, Poirier MC. Fetal Patas Monkeys Sustain Mitochondrial Toxicity As a Result of in Utero Zidovudine Exposure. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;918(1):269-81.
 41. Shikuma CM, Hu N, Milne C, Yost F, Waslien C, Shimizu S, Shiramizu B. Mitochondrial DNA decrease in subcutaneous adipose tissue of HIV-infected individuals with peripheral lipoatrophy. *AIDS.* 2001;15(14):1801-9.
 42. Casademont J, Barrientos A, Grau JM, Pedrol E, Estivill X, Urbano-Márquez A, Nunes V. The effect of zidovudine on skeletal muscle mtDNA in HIV-1 infected patients with mild or no muscle dysfunction. *Brain.* 1996;119(Pt 4):1357-64.
 43. Cherry CL, McArthur JC, Hoy JF, Wesselingh SL. Nucleoside analogues and neuropathy in the era of HAART. *J Clin Virol.* 2003;26(2):195-207.
 44. Chariot P, Drogou I, Lacroix-Szmania I de, Eliezer-Vanerot M-C, Chazaud B, Lombès A, Schaeffer A, Zafrani ES. Zidovudine-induced mitochondrial disorder with massive liver steatosis, myopathy, lactic acidosis, and mitochondrial DNA depletion. *J Hepatol.* 1999;30(1):156-60.
 45. Shiramizu B, Shikuma KM, Kamemoto L, Gerschenson M, Erdem G, Pinti M, Cossarizza A, Shikuma C. Placenta and cord blood mitochondrial DNA toxicity in HIV-infected women receiving nucleoside reverse transcriptase inhibitors during pregnancy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;32(4):370-4.

-
46. Martin JL, Brown CE, Matthews-Davis, And N, Reardon JE. Effects of Antiviral Nucleoside Analogs on Human DNA Polymerases and Mitochondrial DNA Synthesis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994;38(12):2743-9.
47. Birkus G, Hájek M, Kramata P, Votruba I, Holý A, Otová B. Tenofovir diphosphate is a poor substrate and a weak inhibitor of rat DNA polymerases alpha, delta, and epsilon*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(5):1610-3.
48. Birkus G, Gibbs CS, Cihlar T. Comparative effects of adefovir and selected nucleoside inhibitors of hepatitis B virus DNA polymerase on mitochondrial DNA in liver and skeletal muscle cells. *J Viral Hepat.* 2003;10(1):50-4.
49. Mazzucco CE, Hamatake RK, Colonno RJ, Tenney DJ. Entecavir for treatment of hepatitis B virus displays no in vitro mitochondrial toxicity or DNA polymerase gamma inhibition. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(2):598-605.
50. Venhoff N, Setzer B, Melkaoui K, Walker UA. Mitochondrial toxicity of tenofovir, emtricitabine and abacavir alone and in combination with additional nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antivir Ther.* 2007;12(7):1075-85.
51. Pan-Zhou XR, Cui L, Zhou XJ, Sommadossi JP, Darley-USmar VM. Differential effects of antiretroviral nucleoside analogs on mitochondrial function in HepG2 cells. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(3):496-503.

-
52. Valenti D, Atlante A, Barile M, Passarella S. Inhibition of phosphate transport in rat heart mitochondria by 3'-azido-3'-deoxythymidine due to stimulation of superoxide anion mitochondrial production. *Biochem Pharmacol.* 2002;64(2):201-6.
53. Lund KC, Wallace KB. Direct, DNA Pol- γ -Independent Effects of Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors on Mitochondrial Bioenergetics. *Cardiovasc Toxicol.* 2004;4(3):217-28.
54. Modica-Napolitano JS. AZT Causes Tissue-Specific Inhibition of Mitochondrial Bioenergetic Function. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993;194(1):170-7.
55. Barile M, Valenti D, Hobbs GA, Abruzzese MF, Keilbaugh SA, Passarella S, et al. Mechanisms of toxicity of 3'-azido-3'-deoxythymidine: Its interaction with adenylate kinase. *Biochem Pharmacol.* 1994;48(7):1405-12.
56. Barile M, Valenti D, Passarella S, Quagliariello E. 3'-Azido-3'-deoxythymidine uptake into isolated rat liver mitochondria and impairment of ADP/ATP translocator. *Biochem Pharmacol.* 1997;53(7):913-20.
57. Benhammou V, Tardieu M, Warszawski J, Rustin P, Blanche S. Clinical mitochondrial dysfunction in uninfected children born to HIV-infected mothers following perinatal exposure to nucleoside analogues. *Environ Mol Mutagen.* 2007;48(3-4):173-8.
58. Poirier MC, Patterson TA, Slikker W, Olivero OA. Incorporation of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) into fetal DNA and fetal tissue distribution

- of drug after infusion of pregnant late-term rhesus macaques with a human-equivalent AZT dose. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum.* 1999;22(5):477-83.
59. Scalfaro P, Chesaux JJ, Buchwalder PA, Biollaz J, Micheli JL. Severe transient neonatal lactic acidosis during prophylactic zidovudine treatment. *Intensive Care Med.* 1998;24(3):247-50.
60. Blanche S, Tardieu M, Rustin P, Slama A, Barret BE, Firtion G, Ciraru-Vigneron N, Lacroix C, Rouzioux C, Mandelbrot L, Desguerre I, Rötig A, Mayaux MJ, Delfraissy JF. Persistent mitochondrial dysfunction and perinatal exposure to antiretroviral nucleoside analogues *Lancet.* 1999;354(9184):1084-9.
61. Barret B, Tardieu M, Rustin P, Lacroix C, Chabrol B, Desguerre I, Dollfus C, Mayaux MJ, Blanche S; French Perinatal Cohort Study Group. Persistent mitochondrial dysfunction in HIV-1-exposed but uninfected infants: clinical screening in a large prospective cohort. *AIDS.* 2003;17(12):1769-85.
62. Lindegren ML, Rhodes P, Gordon L, Fleming P; Perinatal Safety Review Working Group; State and Local Health Department HIV/AIDS Surveillance Programs. Drug safety during pregnancy and in infants. Lack of mortality related to mitochondrial dysfunction among perinatally HIV-exposed children in pediatric HIV surveillance. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;918:222-35.

-
63. Giaquinto C, De Romeo A, Giacomet V, Rampon O, Ruga E, Burlina A, . Lactic acid levels in children perinatally treated with antiretroviral agents to prevent HIV transmission. *AIDS*. 2001;15(8):1074-5.
64. Soler-Palacín P, Martín-Nalda A, Martínez-Gómez X, Melendo S, Riudor E, Arranz JA, Espiau M, Figueras C. Hyperlactatemia and in Utero Exposure to Antiretrovirals: Is the Control Group the Clue? *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2012;28(8):752-8.
65. Ministério da Saúde. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em crianças e adolescentes. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. [Internet]. [citado 2020 fev 12]. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2014/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-manejo-da-infeccao-pelo-hiv-em-criancas-e>.
66. Brinkman K. Management of hyperlactatemia: No need for routine lactate measurements. *AIDS*. 2001;15(6):795-7.
67. Frankenburg WK, Dodds J, Archer P, Shapiro H, Bresmck B. The Denver II: A Major Revision and Restandardization of the Denver Developmental Screening Test. *Pediatrics*. 1992;89(1):91-7.
68. Kirkwood BR, Sterne JAC, Kirkwood BR. *Essential medical statistics*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science; 2006. 502p.
69. McCullagh P, Nelder JA. *Generalized linear models*. 2nd ed. London: Chapman and Hall; 1989. 511p.
70. Kutner MH, Nachtsheim C, Neter J, Li W. *Applied linear statistical models*. 5th ed. Boston: McGraw-Hill; 2005. 1396p.

-
71. European Collaborative Study. Exposure to antiretroviral therapy in utero or early life: the health of uninfected children born to HIV-infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;32(4):380-7.
72. Dominguez K, Bertolli J, Fowler M, Peters V, Ortiz I, Melville S, Rakusan T, Frederick T, Hsu H, D'Almada P, Maldonado Y, Wilfert C. Lack of definitive severe mitochondrial signs and symptoms among deceased HIV-uninfected and HIV-indeterminate children ≤ 5 years of age, pediatric spectrum of HIV disease project (PSD), USA. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;918:236-46.
73. Bulterys M, Nesheim S, Abrams EJ, Palumbo P, Farley J, Lampe M, Fowler MG. Lack of evidence of mitochondrial dysfunction in the offspring of HIV-infected women: Retrospective review of perinatal exposure to antiretroviral drugs in the perinatal aids collaborative transmission study. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;918:212-21.
74. Margolis AM, Heverling H, Pham PA, Stolbach A. A Review of the Toxicity of HIV Medications. *J Med Toxicol*. 2014;10(1):26-39.
75. Ganta KK, Chaubey B. Mitochondrial dysfunctions in HIV infection and antiviral drug treatment. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2019;15(12):104352.
76. Shetewy A, Shimada-Takaura K, Warner D, Jong CJ, Al Mehdi AB, Alexeyev M, Tahashi K, Schaffer SW. Mitochondrial defects associated with b-alanine toxicity: relevance to hyper-beta-alaninemia. *Mol Cell Biochem*. 2016;416(1-2):11-22.

-
77. Haas RH, Parikh S, Falk MJ, Saneto RP, Wolf NI, Darin N, Wong LJ, Cohen BH, Naviaux RK. The In-Depth Evaluation of Suspected Mitochondrial Disease: The Mitochondrial Medicine Society's Committee on Diagnosis. *Mol Genet Metab*. 2008;94(1):16-7.
78. Cote HCF, Raboud J, Bitnun A, Alimenti A, Money DM, Maan E, Costei A, Gadawski I, Diong C, Read S, Shen S, Harrigan PR, Burdge DR, King SM, Forbes JC. Perinatal exposure to antiretroviral therapy is associated with increased blood mitochondrial DNA levels and decreased mitochondrial gene expression in infants. *J Infect Dis*. 2008;198(6):851-9.
79. Ross AC, Leong T, Avery A, Castillo-Duran M, Bonilla H, Lebrecht D, Walker UA, Storer N, Labbato D, Khaitan A, Tomonova-Soltys I, McComsey GA. Effects of in utero antiretroviral exposure on mitochondrial DNA levels, mitochondrial function and oxidative stress. *HIV Med*. 2012;13(2):98-106.
80. Poirier MC, Gibbons AT, Rugeles MT, Andre-Schmutz I, Blanche S. Fetal consequences of maternal antiretroviral nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI) use in human and non-human primate pregnancy HHS Public Access. *Curr Opin Pediatr*. 2015;27(2):233-9.
81. Jao J, Powis KM, Kirmse B, Yu C, Epie F, Nshom E, Abrams EJ, Sperling RS, Leroith D, Geffner ME, Kurland IJ, Coté HCF. Lower mitochondrial DNA and altered mitochondrial fuel metabolism in HIV-exposed uninfected infants in Cameroon. *AIDS*. 2017;31(18):2475-81.