

MARGARETH DA EIRA

**Alterações na função renal em pacientes HIV/AIDS
tratados com esquemas terapêuticos incluindo indinavir**

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

Área de concentração: Doenças Infecciosas
e Parasitárias

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Seguro

SÃO PAULO
2004

FICHA CATALOGRÁFICA

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

©reprodução autorizada pelo autor

Eira, Margareth da

Alterações na função renal em pacientes HIV/AIDS tratados com esquemas terapêuticos incluindo indinavir / Margareth da Eira. -- São Paulo, 2004.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientador: Antonio Carlos Seguro.

Descritores: 1.INFECCÕES POR HIV/terapia 2.INDINAVIR/uso terapêutico
3.INIBIDORES DA PROTEASE/toxicidade 4.INSUFICIÊNCIA RENAL/
complicações 5.INDINAVIR/toxicidade 6.CREATININA/análise 7.TAXA DE
DEPURAÇÃO METABÓLICA/efeitos de drogas 8.TESTES DE FUNÇÃO
RENAL/métodos 9.GRUPOS CONTROLE 10.ESTUDOS DE AVALIAÇÃO

USP/FM/SBD-066/04

Há um universo de mistérios à nossa volta
e me anima a possibilidade da surpresa.
Emílio Ribas

DEDICATÓRIA

À minha irmã Marise, por ter incentivado o meu sonho
(*in memoriam*)
À minha mãe Marlene, por tê-lo tornado possível

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Antonio Carlos Seguro, pela sua competência, criatividade e objetividade, que me recebeu e apoiou em todas as fases deste trabalho.

À bióloga Magali de Araujo, profissional de extrema competência, pelos ensinamentos essenciais para a execução laboratorial desta pesquisa.

À toda a equipe do Laboratório de Pesquisa Básica LIM-12, onde executei as análises de função renal, pela convivência agradável e pelo apoio operacional.

Aos meus pais, meu irmão José Antonio e meu sobrinho Bruno, pelo amor e pelos ensinamentos que ao longo da vida muito têm contribuído para a minha caminhada.

À Fabíola, pelo carinho, apoio e ensinamentos num momento em que a informática ainda era um grande mistério.

Aos meus amigos de alma, sempre presentes de forma marcante na minha vida, por quem tenho profundo respeito e admiração: Dra. Rosa Moysés, Dra. Kátia Neves, Dr. Egídio Dórea e Dr. Clóvis Silva. Especialíssimos agradecimentos à Rosa e Kátia, revisoras deste trabalho.

Ao Dr. Francisco Laurindo e Laura Brandizzi, do Laboratório de Biologia Vascular do Instituto do Coração, pela contribuição fundamental nas dosagens do nitrato urinário.

Aos amigos Dr. Ângelo Lindoso e Dr. Edison Boccardo, companheiros de projetos e idéias no dia-a-dia do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, pela retaguarda fundamental nas minhas ausências.

Ao Dr. Danilo Nunes e Dr. Alexandre Almeida, pelo grande incentivo nestes anos da pesquisa e encaminhamento de pacientes.

Às auxiliares de enfermagem do ambulatório, pelo apoio e assistência aos pacientes durante as coletas: Maria Ilza, Geraldina, Judite, Geovânia, Maria Inêz e Madalena.

Às oficiais administrativas e auxiliares de serviço do ambulatório do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, pela valiosa contribuição nas diversas fases deste trabalho: Roseli, Ivany, Maria Candida, Rosane e Irene.

Ao Serviço de Diagnóstico de Imagem do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, pela realização da ultrasonografias.

Ao Centro de Estudo Emílio Ribas, pelo suporte financeiro para a apresentação de parte deste trabalho na 11th International Conference on Infectious Diseases, Cancun, Mexico, 2004.

À Prof^a. Dra. Maria Aparecida Basile, pela convivência inspiradora e motivadora durante o estágio no PAE, revelando na docência uma nova paixão.

Às secretárias Rosemeire e Roseli, do Departamento de Moléstias Infeciosas da FMUSP, pelas orientações e apoio valiosos.

À todos os pacientes que tão gentilmente aceitaram participar deste estudo, muitas vezes com uma colaboração surpreendente, fonte contínua de motivação e razão de ser de todo o meu trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO

SUMMARY

1. <u>INTRODUÇÃO</u>	1
1.1 <u>Infecção pelo HIV – aspectos gerais</u>	1
1.2 <u>Terapia anti-retroviral</u>	7
1.2.1 <u>Indinavir e nefrotoxicidade</u>	12
1.3 <u>Óxido nítrico</u>	17
2. <u>OBJETIVOS</u>	23
3. <u>CASUÍSTICA E MÉTODOS</u>	24
3.1 <u>Pacientes</u>	24
3.2 <u>Métodos</u>	26
3.2.1 <u>Desenho do estudo</u>	26
3.2.2 <u>Dosagens bioquímicas</u>	27
3.2.3 <u>Análise do sedimento urinário</u>	28
3.2.4 <u>Parâmetros renais calculados</u>	28
3.2.5 <u>Excreção urinária dos metabólitos do óxido nítrico (nitrito e nitrato)</u>	30
3.2.6 <u>Exames de imagem</u>	31
3.2.7 <u>Análise estatística</u>	31
4. <u>RESULTADOS</u>	32
4.1 <u>Características gerais dos pacientes</u>	32
4.2 <u>Dosagens bioquímicas</u>	36
4.3 <u>Análise do sedimento urinário</u>	37
4.4 <u>Parâmetros renais calculados</u>	38
4.5 <u>Excreção urinária de nitrato (NO₃-)</u>	39
4.6 <u>Exames de imagem</u>	40
5. <u>DISCUSSÃO</u>	42
5.1 <u>A excreção urinária de nitrato</u>	49
6. <u>CONCLUSÕES</u>	53
7. <u>ANEXOS</u>	54
8. <u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	62

RESUMO

EIRA, M. **Alterações na função renal em pacientes HIV/AIDS tratados com esquemas terapêuticos incluindo indinavir.** São Paulo, 2004. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Complicações renais e urológicas incluindo nefrolitíase, cristalúria, cólica renal e lombalgia, são eventos adversos bem conhecidos do indinavir (IDV), um inibidor de protease (IP) largamente utilizado no tratamento de pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Prévios estudos em ratos demonstraram que o IDV, um potente IP capaz de provocar uma sustentada supressão da carga viral do HIV, induz vasoconstrição renal, diminui a filtração glomerular (RFG) e reduz a excreção urinária de nitrito (NO_2^-), sugerindo que a vasoconstrição causada pelo IDV deve ser mediada pelo óxido nítrico (NO). Os objetivos deste estudo foram investigar a ocorrência de insuficiência renal (*clearance* de creatinina $< 80\text{ml/min}$) em pacientes com infecção pelo HIV tratados com terapia anti-retroviral altamente potente incluindo o inibidor de protease IDV, e mensurar a excreção urinária de nitrato (NO_3^-) nestes pacientes, comparando-os com outro grupo de pacientes tratados com efavirenz (EFV), um inibidor de transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo (NNRTI). No período compreendido entre março de 2000 e outubro de 2003, estudamos 36 pacientes infectados pelo HIV que estavam em terapia com IDV na dose de 800 mg de 8/8 horas por pelo menos 12 meses. Os pacientes foram avaliados para uma variedade de parâmetros clínicos e laboratoriais: idade, peso, tempo de infecção, tempo de uso de IDV, uso de sulfametoxazol-trimetoprim (SMX-TMP) ou sulfadiazina, exames bioquímicos (colesterol total, triglicérides, magnésio, sódio, potássio e creatinina), exame do sedimento urinário, *clearance* de creatinina, osmolaridade urinária, volume urinário de 24 h, fração de excreção de sódio (FENa), fração de excreção de potássio (FEK) e fração de excreção de água (FEH₂O). NO_3^- urinário foi mensurado em 18 pacientes recebendo terapia anti-retroviral com IDV e 8 pacientes recebendo terapia com EFV. Leucocitúria ocorreu em 78.8% dos pacientes tratados com IDV. *Clearance* de creatinina diminuído foi observado em 21 pacientes e foi associado com menor peso e uso de derivados de sulfa. Nestes pacientes com diminuição da função renal, também detectamos menor osmolaridade urinária e uma FEH₂O mais alta. A excreção urinária de NO_3^- foi significativamente menor nos pacientes tratados com IDV (908 ± 181) quando comparados aos pacientes do grupo EFV (2247 ± 648 , $p < 0.01$). Nossos resultados mostram que insuficiência renal ocorreu em 58% dos pacientes tratados com IDV e foi associada com menor peso corpóreo e uso de derivados de sulfa. A menor excreção urinária de NO_3^- e as alterações na osmolaridade e FEH₂O sugerem que o IDV diminui a produção de óxido nítrico e causa dano tubular, respectivamente. Sugerimos então que os pacientes em uso de IDV sejam monitorados rotineiramente para função renal através do *clearance* de creatinina.

SUMMARY

EIRA, M. **Alterations in renal function in HIV/AIDS patients treated with therapeutic regimens including indinavir.** São Paulo, 2004. Dissertation (Mastering) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Renal and urological complications including nephrolithiasis, crystalluria, renal colic and flank pain are significant side effects of the HIV protease inhibitor indinavir (IDV), and IDV has been widely used in the treatment of human immunodeficiency virus (HIV) infection. Previous studies in rats demonstrated that IDV, a potent protease inhibitor that causes profound and sustained suppression of HIV replication, also induces renal vasoconstriction, decreases glomerular filtration rate (GFR) and reduces urinary excretion of nitrite (NO_2^-), suggesting that IDV-vasoconstriction may be mediated by nitric oxide (NO). The objectives of this study were to investigate the occurrence of renal failure (creatinine clearance $<80\text{ml/min}$) in human HIV patients treated with highly active antiretroviral therapy (HAART), including IDV, and to measure urinary excretion of nitrate (NO_3^-) in those patients, comparing it with that of another group of patients treated with the non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitor efavirenz (EFV). From March 2000 through October 2003, we evaluated 36 patients infected with HIV who was receiving IDV 800 mg q8h for at least 12 months. The patients were assessed for a variety of clinical and laboratory parameters including age, body weight, duration of infection, time of IDV treatment, trimethoprim/sulfamethoxazole (TMP/SMX) or sulfadiazine use, biochemistry (total cholesterol, triglycerides, magnesium, sodium, potassium and creatinine), urinalysis, creatinine clearance, urine osmolality, 24-hour urine volume, fractional excretion of sodium (FENa), potassium (FEK) and water (FEH_2O). Urinary NO_3^- was measured in 18 IDV-treated patients and compared with that of 8 EFV-treated patients. Leukocyturia occurred in 78.8% of the IDV-treated patients. Reduced creatinine clearance was observed in 21 patients and was associated with lower body weight and sulfa-derivated use. In these renal failure patients, we also detected a lower osmolality and a higher FEH_2O . Excretion of NO_3^- was significantly lower in IDV-treated patients (908 ± 181) than in EFV-treated patients (2247 ± 648 , $p < 0.01$). Our data show that renal failure occurred in 58% of IDV-treated patients and was associated with lower body weight and sulfa administration. The lower NO_3^- excretion suggests that this drug decreases nitric oxide production, and the alterations in osmolality and FEH_2O indicate that it also causes tubular damage. Based on our findings, we suggest that the renal function of patients under IDV treatment should be closely monitored with creatinine clearance.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Infecção pelo HIV – aspectos gerais

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) é a expressão clínica de um espectro de desordens causadas por uma disfunção da imunidade celular e humoral resultante da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Desde que, em 1981, foram notificados aos CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) o aparecimento de múltiplos casos de pneumonia por *Pneumocystis carinii* e Sarcoma de Kaposi em homossexuais masculinos na Califórnia e Nova York, as investigações epidemiológicas, virológicas e clínicas subsequentes demonstraram que a pandemia da AIDS é atribuída à transmissão sexual, parenteral e perinatal do HIV (CDC, 1981). No final de 2000, a Organização Mundial da Saúde estimava mais de 36 milhões de pessoas infectadas pelo HIV em todo o mundo.

Identificado em 1983, o HIV é um vírus RNA pertencente à subfamília lentivírus dos retrovírus humanos (Barre-Sinoussi et al., 1983). Possui em seu core uma enzima denominada transcriptase reversa, a qual permite a

transcrição do RNA viral em DNA, podendo desta forma integrar-se ao genoma da célula do hospedeiro. Esta integração do provírus DNA dentro do cromossoma do hospedeiro é catalizada por outra enzima retroviral, denominada integrase. Dentro do genoma do hospedeiro o provírus pode permanecer latente sem considerável transcrição de RNA ou síntese de proteínas virais. Porém, quando um linfócito *T-helper* contendo provírus integrado é ativado por antígenos ou citocinas, ocorre um aumento da expressão de RNA mensageiro (mRNA) que é transcrito em proteínas virais. A protease é a enzima que cliva as poliproteínas para a montagem do vírion, completando o ciclo de vida do HIV. Importante lembrar que existem outras células do hospedeiro que também são infectadas pelo HIV, dentre as quais os macrófagos, as células dendríticas e as células de *Langerhans*.

O genoma proviral consiste de três genes estruturais, *gag pol* e *env*, que codificam respectivamente para as proteínas do core, as enzimas virais e as proteínas interna e externa do envelope. Outros genes foram identificados no genoma do HIV-1, a saber: *tat* (transativador), *rev* (regulador da expressão das proteínas virais), *vif* (fator de infectividade do vírion), *nef* (fator negativo), *vpr* (proteína R viral) e *vpu* (proteína U viral) (Gallo et al., 1998). A expressão destes genes tem impacto significativo nos mecanismos imunopatogênicos do vírus.

A infecção pelo HIV é diagnosticada pela detecção de anticorpos contra o vírus, ou por antígenos virais, ou por RNA/DNA viral ou por cultura viral (Gürtler, 1996), sendo que o padrão é a sorologia (detecção de anticorpos). Existem dois tipos de HIV descritos em humanos, o HIV-1 e o

HIV-2, que embora dividam muitas características biológicas e genéticas, possuem genes regulatórios e estruturais que são únicos. O HIV-1 é dividido em subtipos designados de “ A a K “, “N “ e “ O “. O subtipo B é o predominante nas infecções pelo HIV-1 nos Estados Unidos, no Oeste Europeu e na América Latina (Hu et al., 1996; Weidle et al., 2000). Bongertz et al. (2000), encontraram em estudo realizado com amostras clínicas coletadas em diferentes sítios no Brasil 3 subtipos genéticos do HIV-1: B (82.9%), F (14.3%) e C (2.9%). Já o HIV-2 é encontrado no oeste da África, onde foi identificado em meados dos anos 80. Dados disponíveis na literatura sugerem que o HIV-2, quando comparado ao HIV-1, é menos transmissível, menos agressivo e que está associado com uma menor carga viral, queda mais lenta das células CD4 e maior período de latência clínica (O’Shaughnessy, Schechter, 1994; Shanmugam et al., 2000). Os laboratórios utilizam testes imunoenzimáticos (ELISA) para a detecção de anticorpos para o HIV-1 e o HIV-2. Não existem testes comerciais disponíveis para a quantificação da carga viral do HIV-2 (Andersson et al., 2000).

Vernazza et al. (1999), relacionou diversos fatores com a transmissibilidade do HIV, entre os quais podemos citar as características fenotípicas (proteínas do envelope), fatores genéticos que controlam a capacidade replicativa e “*fitness*” do vírus, e resistência às drogas anti-retrovirais. A história natural da infecção pelo HIV em adultos foi muito bem documentada na literatura, sendo a infecção retroviral aguda o evento inicial que ocorre de 5 a 30 dias após a exposição (Schacker et al., 1998),

acometendo cerca de 40–90% dos casos. Muitas vezes ocorre na forma oligossintomática, porém quando a síndrome clínica manifesta-se os sintomas são inespecíficos: febre, fadiga, exantema maculopapular eritematoso, cefaléia, linfadenopatia, alterações gastrintestinais, faringite, meningite asséptica e ulcerações orais. Quando o paciente chega a procurar auxílio nestas ocasiões, o diagnóstico muitas vezes confunde-se com as doenças que usualmente causam a síndrome da mononucleose infecciosa ou outras doenças virais agudas. Do ponto de vista imunopatogênico, esta fase é caracterizada por uma alta taxa de replicação viral, altos títulos de vírus no sangue e órgãos linfóides, e o início de uma resposta imune HIV-específica. Com o desenvolvimento desta resposta imunológica (resposta T citotóxica), a quantidade de vírus presente no sangue e tecidos começa a cair em algumas semanas, com a intensidade desta resposta variando de paciente para paciente e sendo associada com o risco de progressão para doença sintomática (Cao et al., 1995). Este patamar atingido no decréscimo de partículas virais denomina-se *set point*. Muitos pesquisadores preconizam tratamento na fase aguda para redução da viremia e melhora do prognóstico, muito embora a erradicação do HIV não seja possível. Um pool de células CD4 permanecem persistentemente infectadas (reservatórios latentes) no curso da infecção pelo HIV (Chun et al., 1998).

No período assintomático ocorre uma estabilidade clínica, com sorologia positiva para o HIV e indicação de avaliação clínica e laboratorial periódicas. Nesta fase pode ocorrer a linfadenopatia generalizada persistente em alguns pacientes, que é definida pela presença de gânglios

em mais de duas cadeias extra-inguinais com evolução de três ou mais meses, sem outros sinais ou sintomas associados. Aproximadamente 50% dos pacientes irão desenvolver AIDS dentro de 10 anos após a infecção, havendo uma correlação com a idade, ou seja, pessoas mais velhas parecem progredir mais rapidamente. Do ponto de vista laboratorial ocorre um aumento de gamaglobulinas, devido a um aumento da produção de anticorpos policlonais. Apesar disto, a resposta de anticorpos a antígenos polissacarídes e protéicos é diminuída.

No momento em que a contagem de CD4 cai abaixo de 200 céls/ìL, os pacientes passam a apresentar um risco maior de desenvolvimento de infecções oportunistas (IOs), determinadas neoplasias, síndrome consuptiva e complicações neurológicas. Em pacientes não-tratados, a sobrevida mediana com a contagem de CD4<200 céls/ìL é de 3,7 anos, e a sobrevida mediana após uma doença definidora de AIDS é de 1,3 anos. No quadro 1 encontramos os critérios CDC/OMS (1993) para definição de caso AIDS, segundo as doenças indicadoras. Já no quadro 2 temos a classificação da infecção pelo HIV segundo o CDC (1993).

**Quadro 1 – DOENÇAS INDICADORAS NA DEFINIÇÃO DE CASOS DE AIDS
(ADULTOS) – 1993**

Doenças indicadoras (CDC):

- . Câncer cervical invasivo (sorologia +).
- . Candidíase de esôfago, traquéia, brônquios ou pulmão.
- . CMV (exceto: fígado, baço, linfonodos, retinite).
- . Coccidioidomicose extrapulmonar (sorologia +).
- . Criptococose extrapulmonar.
- . Criptosporidiose com diarreia > 30 dias.
- . Demência associada ao HIV (sorologia +):
incapacidade cognitiva e/ou outras disfunções que interfiram com a atividade profissional ou cotidiana.
- . Herpes simples com úlcera mucocutânea por mais de um mês ou bronquite, pneumonite e esofagite.
- . Histoplasmose extrapulmonar (sorologia+).
- . Isosporíase com diarreia > 30 dias (sorologia+).
- . Leucoencefalopatia multifocal progressiva (LEMP).
- . Linfoma de burkitt, imunoblástico, primário do SNC.
- . *Mycobacterium avium*, disseminado.
- . *Mycobacterium tuberculosis*, pulmonar e extra-pulmonar.
- . Pneumonia bacteriana recorrente (>2 episódios em 12 meses) – sorologia +.
- . Pneumonia por *Pneumocystis carinii*.
- . Sarcoma de kaposi < 60 anos – em > 60 anos necessita sorologia positiva.
- . Septicemia recorrente por *Salmonella* não-tifóide (sorologia+).
- . Síndrome consuptiva associada ao HIV (sorologia +):
perda ponderal involuntária superior a 10% do peso corporal e diarreia crônica (mais de duas evacuações com fezes amolecidas por dia, durante mais de 30 dias)
ou fraqueza crônica e febre de origem obscura documentada acima de 30 dias.
- . Toxoplasmose de órgão interno.

CMV – citomegalovirose; SNC – sistema nervoso central.

Quadro 2 – Classificação da infecção pelo HIV – CDC / 1993

Categorias Laboratoriais (CD4)	CATEGORIAS CLÍNICAS		
	A	B	C*
	Assintomático, LGP ou Inf. Aguda	Sintomático, não-A e não-C	Doenças indicadoras de AIDS
> 500 céls/mm ³	A1	B1	C1
200 – 499 céls/mm ³	A2	B2	C2
< 200 céls/mm ³	A3*	B3*	C3

LGP – linfadenopatia generalizada persistente.

* Todos os pacientes nas categorias A3, B3 e C1-3 são notificados como tendo AIDS, com base nas doenças indicadoras de AIDS do quadro 1 e/ou na contagem de linfócitos T-CD4+ < 200 céls/mm³.

1.2 Terapia anti-retroviral

A primeira droga anti-retroviral a ser liberada para uso clínico foi a Zidovudina (AZT) em 1987, do grupo dos inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN), sendo seguida posteriormente por outras drogas desta classe terapêutica: didanosina, zalcitabina, estavudina e lamivudina. Neste momento, os estudos clínicos mostraram uma superioridade da terapia anti-retroviral combinada, quando comparada à

monoterapia com AZT. Quando em 1996 foram introduzidos na prática clínica os inibidores de protease (IPs), drogas que levam à liberação de partículas virais inativas, sendo o saquinavir a primeira droga desta classe a ser aprovada pelo FDA (*Food and Drugs Administration*), inaugurou-se uma nova era no tratamento da AIDS que foi denominada HAART (*Highly Active Antiretroviral Therapy*). Neste mesmo ano, a introdução da nevirapina, um inibidor de transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo (ITRNN), também resultou em estudos que demonstraram sua eficácia na supressão da carga viral em pacientes virgens de terapia, quando associada com dois análogos nucleosídeos. A partir daí, houve um impacto dramático na progressão natural da doença causada pelo HIV (Brodt et al., 1997; Detels et al., 1998; Palella et al., 1998). Diversos estudos foram realizados para avaliar regimes altamente potentes com base na duração da supressão viral (Miller et al., 1999; Phillips et al., 2001). A importância de manter um controle virológico baseia-se em conhecimentos atuais da patogênese do HIV, nos quais HAART é necessária para suprimir a replicação viral e prevenir a progressão da doença. HAART foi definido como um regime que incluía dois inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos e pelo menos um inibidor de protease, ou um inibidor de transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo ou abacavir (CDC, 2002). Kaplan et al. (2003), mostraram que o risco de progressão para AIDS ou morte foi maior entre pacientes que tinham contagens menores de CD4 quando HAART foi iniciada ($CD4 < 200$ céls/ μ L), sendo prudente iniciar a terapia com níveis de CD4 entre 200-349 céls/ μ L, particularmente para aqueles com elevada carga viral plasmática.

Peterson et al. (2002) demonstraram que quando a aderência foi considerada, taxas de progressão de doença em pacientes que iniciaram terapia com contagem de CD4 entre 200-350 céls/ìL não foram diferentes daqueles que iniciaram com CD4>350 céls/ìL.

No Guia de Tratamento do Ministério da Saúde do Brasil 2004, o início da terapia foi claramente indicado para pacientes sintomáticos ou assintomáticos com CD4< 200 céls/ìL. Para os assintomáticos com contagem de CD4 entre 200 e 350 céls/ìL o tratamento pode ser iniciado, dependendo da avaliação do especialista no que diz respeito aos aspectos clínicos e laboratoriais (imunológico e virológico) dos pacientes.

Chen et al. (2003), selecionaram 405 pacientes que iniciaram regimes HAART entre Janeiro-1996 e Outubro-2002, avaliando a duração dos esquemas terapêuticos propostos inicial e sucessivamente. A média de duração dos regimes iniciais foi de 1.6 anos, e as principais causas de descontinuação foram as toxicidades droga-associadas.

Portanto, apesar da incontestável redução nas taxas de morbidade e mortalidade após a introdução de HAART (Mocroft et al., 1998), a presença de toxicidades agudas e crônicas associadas com estes esquemas, algumas vezes fatais, contribuiu para que as recomendações terapêuticas ficassem menos agressivas.

Acreditamos, desta forma, que o estudo destas toxicidades contribua com informações relevantes para o manejo clínico dos pacientes com infecção pelo HIV. Complicações renais têm sido reconhecidas com crescente freqüência em pacientes infectados pelo HIV, e podemos citar

entre elas: nefropatia associada ao HIV (Rao et al., 1984; D'Agati et al., 1989), insuficiência renal aguda (IRA), distúrbios hidro-eletrolíticos (hipernatremia, hipocalemia, hipomagnesemia e hipofosfatemia, entre outros), infecções renais (tuberculose renal entre outras) e desordens infiltrativas e malignas (linfoma renal, sarcoma de Kaposi, amiloidose e hipernefroma, entre outras).

A nefropatia associada ao HIV (NAHIV) é histologicamente uma glomeruloesclerose segmentar e focal (GESF) que acomete cerca de 5-10% dos pacientes infectados pelo HIV (principalmente da raça negra e usuários de drogas injetáveis), sendo caracterizada clinicamente por uma proteinúria progressiva em nível de síndrome nefrótica que evolui muitas vezes de modo fulminante para uma insuficiência renal crônica terminal (IRCT) caso não seja tratada (Rao et al., 1984). Sendo uma complicação tardia, quase todos os pacientes já apresentaram uma doença definidora no momento do diagnóstico. A GESF também ocorre na nefropatia heroína-associada com proteinúria, porém a progressão para insuficiência renal severa ocorre em meses, enquanto que na NAHIV pode ocorrer em até 8 semanas. As razões para esta rápida progressão não são claras, mas podem estar relacionadas com estimulação antigênica contínua dos diversos agentes infecciosos nos pacientes com AIDS.

A IRA em pacientes infectados pelo HIV pode ser resultado da própria infecção pelo vírus ou ser conseqüência de hipoalbuminemia (desnutrição / caquexia), ou de rabdomiólise/mioglobinúria, ou de procedimentos diagnósticos (uso de radiocontraste) e terapêuticos (aminoglicosídeos,

anfotericina B, aciclovir e pentamidina, entre outros) (Rao, 1998). Sua etiologia pode ser também caracterizada como pré-renal, renal e pós-renal, sendo a necrose tubular aguda (NTA) a desordem renal intrínseca mais comum, caracterizada por injúria tubular isquêmica, tóxica ou ainda por obstrução intratubular causada por precipitação de drogas (Krishnan et al., 2000). A NTA apresenta-se clinicamente sob duas formas: oligúrica e não-oligúrica. Seu curso clínico varia de uma forma leve, auto-limitada, com breve duração de oligúria e uremia (somente um aumento da creatinina sérica), até formas mais graves requerendo diálise e assistência em unidade de terapia intensiva.

Nos pacientes HIV+ assintomáticos, a IRA geralmente é moderada, ocorrendo principalmente pelo uso de drogas anti-retrovirais. Já nos pacientes com AIDS, portadores de infecções oportunistas (IOs), a IRA pode ser complicada pela ocorrência de hipovolemia, acidose metabólica, comprometimento de múltiplos órgãos e uso de drogas nefrotóxicas, tais como pentamidina, anfotericina B e aminoglicosídeos, entre outras (Rao, 1998). Nestas situações a gravidade é maior e está associada com mortalidade elevada, variando de 50% nos pacientes com sepse/choque à 70% na fase aguda dos episódios de NTA (Santos et al., 2000).

A terapêutica anti-retroviral pode provocar ou contribuir para o agravamento da IRA, por mecanismos diversos. A terapia anti-retroviral tem sido relacionada com diversos eventos adversos, dentre os quais dislipidemia, resistência periférica à insulina, redistribuição de gordura corporal e toxicidade mitocondrial. Bodasing, Fox (2002), sugerem num

artigo de revisão que a origem desta síndrome lipodistrófica tem origem multifatorial, incluindo a própria infecção pelo HIV e as diversas associações de drogas anti-retrovirais. Com relação aos efeitos nefrotóxicos dos IPs, muitas vezes difíceis de serem estabelecidos pelas associações com diversas drogas, a literatura tem registrado diversas complicações renais associadas ao indinavir (IDV), as quais descreveremos a seguir.

1.2.1 Indinavir e nefrotoxicidade

O indinavir (IDV) foi aprovado pelo FDA para uso clínico no tratamento de pacientes infectados pelo HIV em 1996 e, como parte de um regime de combinação de drogas com dois ITRN, tem contribuído significativamente para a redução da carga viral destes pacientes (Gulik et al., 1997). Seu peso molecular é de 758 daltons, a meia-vida plasmática cerca de 1.8h, sendo aproximadamente 60% ligado às proteínas plasmáticas (Plosker, Noble, 1999). É rapidamente metabolizado pelo fígado através do citocromo P-450 (CYP 3A 4), com eliminação principalmente pelo trato gastrointestinal.

Aproximadamente 20% de uma dose oral de IDV é excretada em sua forma inalterada na urina (Balani et al., 1995; Deeks et al., 1997). O *clearance* renal de indinavir livre é estimado em 300-400 ml/min, o qual excede o *clearance* de creatinina, indicando secreção tubular (Yeh et al., 1998). A solubilidade do IDV na água em pH 6.0 é baixa (0.03 mg/ml), aumentando em condições de acidificação. Entretanto a acidificação urinária para um pH menor que 5.0 seria pouco tolerada e possivelmente prejudicial

(pedras de ácido úrico), especialmente em pacientes recebendo terapia concomitante com derivados de sulfonamida. Koop et al. (1997) afirmam que não surpreende que o tratamento com indinavir resulte na formação de cristais e pedras, tendo em vista sua limitada solubilidade em pH fisiológico e uma relativamente alta proporção de excreção renal. Por esta razão, recomenda-se uma ingestão de pelo menos 1.5L de líquidos diariamente, para assegurar uma hidratação adequada e reduzir o risco de nefrolitíase (Plosker, Noble, 1999). Daudon et al. (1997) estudaram a composição das pedras urinárias de 29 pacientes tratados com IDV, demonstrando que eram constituídas de cristais de IDV com ou sem componentes metabólicos tais como oxalato e/ou fosfato de cálcio.

A dose convencional recomendada de IDV é de 800mg a cada 8 horas, porém atualmente para pacientes que iniciarão tratamento com IDV, a associação deste com o ritonavir (RTV) como adjuvante farmacológico é colocada como preferencial, tendo em vista uma farmacocinética favorável com a redução da quantidade diária de cápsulas e ampliação do intervalo entre doses (12/12h), favorecendo melhor adesão ao tratamento. Além disto, o jejum recomendado na administração (1 hora antes ou 2 horas após as refeições) torna-se desnecessário, embora a necessidade de hidratação deva ser mantida e até mesmo reforçada. A associação indinavir/ritonavir (IDV/r), poderá ser utilizada nas seguintes doses: 800/100 mg ou 800/200 mg de 12/12 horas. Na literatura encontramos relatos de casos de nefrolitíase com o esquema IDV/RTV 800/100-200 mg de 12/12 horas (Solas et al., 2002). Portanto, apesar

de bem toleradas, estas associações levam a níveis máximos de IDV mais elevados e, possivelmente, maiores taxas de nefrotoxicidade.

Segundo o Guia de Tratamento do Ministério da Saúde 2004, o indinavir (IDV), com ou sem RTV como adjuvante farmacológico, deixa de ser recomendado para início de tratamento pela sua alta toxicidade, embora seja possível sua manutenção nos casos em que o paciente apresente boa tolerância, adesão e resposta terapêutica. O uso de IDV como único inibidor de protease do esquema passa a ser considerado em situações excepcionais, como na quimioprofilaxia para exposição ocupacional ou sexual ao HIV e para tratamento de pacientes com insuficiência hepática, embora a tolerância seja bastante ruim na maioria dos casos.

Os efeitos adversos mais comumente associados ao indinavir são: náuseas, vômitos, distúrbios do paladar, dor abdominal, hiperbilirrubinemia indireta, paroníquia, xerodermia, xerostomia, alopecia, fadiga, dislipidemia, lipodistrofia, hiperglicemia resistente à insulina e nefrolitíase (\pm hematúria).

A incidência de complicações renais associadas ao indinavir (principalmente nefrolitíase), baseada em dados provenientes de 2071 pacientes participantes de estudos clínicos, foi de aproximadamente 9% (193 pacientes), sendo que somente 4% (7 de 193 pacientes) necessitaram descontinuar o tratamento após hidratação adequada e interrupção temporária da droga (Plosker, Noble, 1999). Reiter et al. (1999), encontraram uma taxa de 12.4% de nefrolitíase em um estudo prospectivo com 105 pacientes usando IDV durante um ano. Uma coorte com 155 pacientes tratados com IDV estimou uma incidência cumulativa de nefrolitíase variando

de 13.1% a 28.4%, dependendo da duração do tratamento, idade e ingestão adequada de líquidos (Saltel et al., 2000). Quando os sintomas são persistentes ou severos, pode ser realizada uma cistoscopia e/ou urografia excretora, com substituição da droga por outro IP caso seja necessário (Rich et al., 1997). Os cálculos renais compostos de indinavir, metabólitos de indinavir ou oxalato/fosfato de cálcio são radioluscentes e com aparência gelatinosa na endoscopia (Kohan et al., 1999).

Um estudo europeu, denominado coorte ATHENA (*AIDS Therapy Evaluation National AIDS Therapy Evaluation Centre*) foi realizado entre 1219 pacientes infectados pelo HIV recebendo terapia antiretroviral com IPs após 1996, sendo que 644 usaram IDV em qualquer tempo; avaliou-se a incidência de sintomas urológicos em 8.3/100 pacientes-ano e os fatores de risco para o seu desenvolvimento como sendo baixo peso, baixo índice de massa corporal média, doses > 1000mg de indinavir e clima quente (Dieleman et al., 2002).

Brodie et al. (1998), avaliaram retrospectivamente a relação entre o primeiro episódio de nefrolitíase associada ao IDV (dor lombar e hematúria) com hemofilia e infecção pelo HCV, concluindo que este evento adverso foi significativamente maior nestes grupos. Em outro relato, dois pacientes hemofílicos recebendo terapia de combinação com indinavir por mais de 76 semanas apresentaram piúria persistente e atrofia renal revelada por estudo ultrasonográfico (Hanabusa et al., 1999).

Cristalúria associada ao indinavir parece ser mais comum que a nefrolitíase, sendo algumas vezes acompanhada de sintomas urológicos.

Koop et al. (1997), demonstraram uma incidência de cerca de 20% de cristalúria em pacientes recebendo indinavir, a qual na maioria das vezes é assintomática, podendo porém estar associada com sintomas do trato urinário sem nefrolitíase, tais como disúria, urgência, lombalgia e cólica renal. A disúria e a urgência podem ser causados por uma densa cristalúria que irrita a mucosa da bexiga e da uretra, levando a um falso diagnóstico de uretrite infecciosa aguda que acaba sendo desnecessariamente tratada com antibioticoterapia.

Diversos autores investigaram a associação entre leucocitúria persistente e efeitos nefrotóxicos diretos relacionados ao uso de indinavir (Tashima et al., 1997; Martinez et al., 1998; Perazella et al., 1998; Chen et al., 1998). Biópsias renais realizadas em pacientes com piúria e nefropatia associada ao IDV revelaram múltiplos cristais nos dutos coletores do rim (Perazella et al., 1998; Grabe et al., 1999; Sarcletti et al., 2000), os quais foram atribuídos ao sulfato de indinavir, desde que os cristais encontrados eram similares àqueles vistos nas cápsulas do medicamento. Além disto, uma doença tubulo-intersticial IDV-associada foi encontrada em estudos histológicos, com significativa atrofia no sistema tubular e um infiltrado misto (linfócitos/histiócitos) no interstício, com fibrose proeminente (Tashima et al., 1997; Grabe et al., 1999; Sarcletti et al., 2000).

Boubaker et al. (1998) demonstraram que o uso prolongado de IDV está associado a uma nefropatia com níveis aumentados de creatinina sérica, particularmente em pacientes com baixo índice de massa corpórea ou recebendo profilaxia com sulfametoxazol-trimetoprim (SMX-TMP).

Concentrações plasmáticas elevadas de IDV foram associadas com complicações urológicas em 80% dos pacientes de um estudo, incluindo cólica renal, hematúria, cristalúria e disúria (Dieleman et al., 1999).

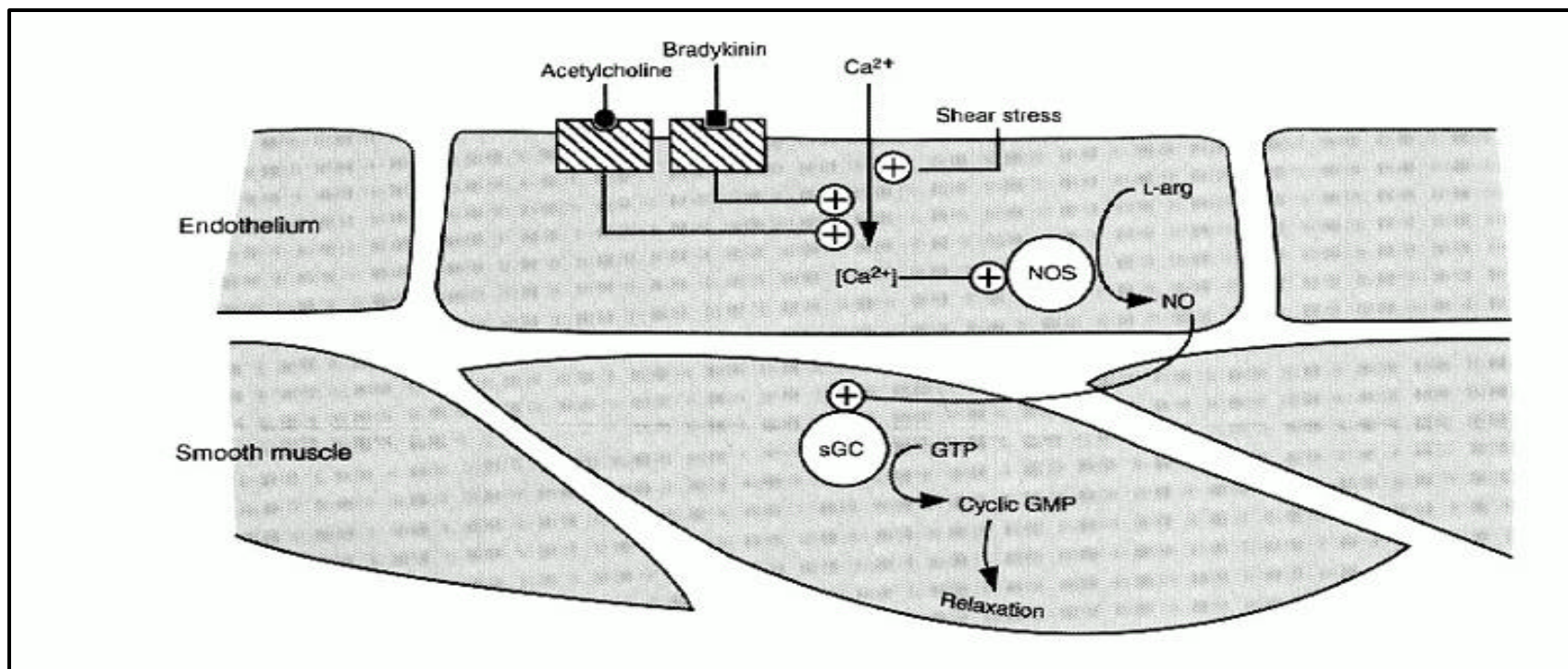
Recentemente, estudos em modelos experimentais (ratos) demonstraram que o mecanismo primário da nefrotoxicidade do IDV é vasoconstrição renal e não toxicidade tubular direta, e que este efeito deletério é potencializado pelo uso de SMX/TMP (Araujo, Seguro, 2002). Novas investigações do laboratório em ratos mostraram que os agentes vasodilatadores L-arginina, nifedipina e magnésio protegem contra a nefrotoxicidade induzida pelo IDV, e que os efeitos hemodinâmicos induzidos por este inibidor de protease são provavelmente mediados pelo óxido nítrico (NO) (Araujo, Seguro, 2003).

Tendo em vista a longa experiência com o IDV no tratamento de pacientes infectados pelo HIV, mostrando um benefício sustentado dos esquemas anti-retrovirais que contém este potente inibidor de protease, os recentes achados dos modelos experimentais e a falta de maiores dados em estudos clínicos relacionados à função renal e excreção urinária de metabólitos de NO, achamos de grande aplicabilidade clínica o estudo destes eventos adversos e seus possíveis mecanismos.

1.3 Óxido nítrico

Furchgott, Zawadzki (1980), descobriram acidentalmente que o efeito vasodilatador da acetilcolina era dependente de uma substância liberada pelas células endoteliais, a qual foi posteriormente denominada fator de relaxamento derivado do endotélio (*EDRF- endothelium-derived relaxing factor*). Em 1987, evidências consistentes fizeram com que o óxido nítrico fosse identificado como sendo este fator (Palmer et al., 1988).

O NO é um gás incolor e hidrossolúvel na ausência de oxigênio, com meia-vida de 3 a 5 segundos. Na Figura 1 observamos que a presença de estresse na parede arterial ou ativação de receptores da parede endotelial por bradicinina ou acetilcolina leva à um influxo de cálcio que estimula a óxido nítrico sintase (NOS). O óxido nítrico (NO) formado a partir do aminoácido L-arginina (L-arg) na presença da enzima NOS, difunde-se para a célula muscular lisa adjacente onde irá estimular a guanilato ciclase solúvel (sGC) aumentando a produção de monofosfato de guanosina cíclico (GMPc), o que irá provocar vasodilatação por relaxamento da célula muscular lisa (Moncada, Higgs, 1993). Neste processo de síntese de NO mediado pela enzima NOS e Ca²⁺ dependente, ocorre formação simultânea de L-citrulina que parece ser um metabólito inativo desta reação (Marletta, 1993).



Fonte: Moncada, S. e cols. *N Engl J Med* 1993;329:2002-2012

Figura 1. Mecanismo fisiológico do relaxamento vascular mediado pelo óxido nítrico. O estresse da parede arterial ou ativação de receptores do endotélio vascular por bradicinina ou acetilcolina resulta em influxo de cálcio que aumentado dentro da célula estimula a óxido nítrico sintase (NOS), formando o óxido nítrico a partir da L-arginina (L-arg) que se difunde para a célula muscular lisa adjacente causando vasodilatação.

Nos vasos normais parece haver quantidade suficiente de L-arginina para conversão máxima em NO, uma vez que ocorre regeneração endógena a partir de outros aminoácidos e que a adição exógena do substrato não aumenta o relaxamento dependente do endotélio nestas circunstâncias. No entanto, em determinadas condições experimentais, a administração da L-arginina poderá ser crítica para a restauração da resposta endotelial.

As ações do NO são semelhantes à da prostaciclina, sendo ambos potentes vasodilatadores e inibidores da agregação plaquetária. Entretanto, a vida-média da prostaciclina é maior (minutos) e suas ações são mediadas pela AMPc (adenina monofosfato cíclica), enquanto as do NO são mediadas pelo GMPc.

O NO passa de uma forma menos estável para outra mais estável em poucos segundos, podendo reagir com outra molécula de NO ou com a molécula de oxigênio. No primeiro caso, os produtos finais serão o nitrito (NO_2^-) e uma molécula de oxigênio; no segundo, formará peroxinitrito (OONO) mais óxido nítrico (NO) – uma forma bem mais reativa. Na água ou no plasma, o NO reage rapidamente com o oxigênio e é oxidado a nitrito ficando estável por várias horas. Na corrente sangüínea o nitrito é oxidado a nitrato (NO_3^-) que tem vida-média de cinco a oito horas e é eliminado pela urina. A concentração sérica de NO $_2^-$ é 100 vezes maior que a do NO.

O óxido nítrico é liberado continuamente em condições basais pelas células endoteliais, sob diversos estímulos fisiológicos: alterações do fluxo sangüíneo, estresse parietal e tensão de oxigênio. Substâncias vasoativas

também induzem a liberação de NO, entre as quais podemos citar neurotransmissores, hormônios (acetilcolina, noradrenalina e vassopressina), mediadores locais (bradicinina e histamina) e compostos liberados durante a agregação plaquetária ou formação de trombos (nucleotídeos da adenosina, serotonina e trombina) (Palmer et al., 1987).

Biond et al. (1990) demonstraram a existência do EDRF (óxido nítrico) na medular renal e aumento de GMPc na presença de acetilcolina. Utilizando células epiteliais de rim de porco, Ishii et al. (1991) demonstraram produção de EDRF e aumento de GMPc, via guanilato ciclase solúvel.

Outro estudo demonstrou a ação direta do óxido nítrico nas células mesangiais, via guanilato ciclase solúvel, participando da auto-regulação do fluxo sanguíneo renal através da vasodilatação provocada pelo relaxamento da musculatura lisa das artérias renais e da regulação da área de filtração glomerular (Marsden, Ballerman, 1990).

A inibição da síntese de NO pode alterar mecanismos homeostáticos, diminuindo a natriurese secundariamente ao aumento da resistência vascular renal e aumentar a reabsorção tubular de sódio. Em animais de experimentação, estes efeitos induziram resposta hipertensiva e alterações glomerulares e tubulares (Gabbai, 2001).

Vários estudos demonstraram que a administração de L-arginina tem efeito protetor na insuficiência renal aguda nefrotóxica (Assis et al., 1997; Yang et al., 1998).

Estes dados nos levaram a incluir em nosso estudo a avaliação da excreção urinária dos metabólitos do óxido nítrico em pacientes com

infecção pelo HIV tratados com HAART incluindo o inibidor de protease indinavir, tendo em vista que os modelos experimentais demonstraram um mecanismo vasoconstrictor na nefrotoxicidade da droga. Não existem até o momento estudos clínicos que tenham investigado o papel mediador do NO na nefropatia IDV-induzida.

2. OBJETIVOS

1. Avaliar os efeitos do inibidor de protease indinavir (IDV) em terapia de combinação com inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos sobre a função renal na amostra estudada.
2. Estudar alguns fatores de risco que possam predispor às complicações renais do IDV, tais como idade, sexo, tempo de infecção, tempo de uso da droga, peso, profilaxia com sulfametoxazol-trimetoprim (SMX-TMP) e co-infecção com vírus da hepatite C (HCV).
3. Verificar se os seguintes parâmetros clínicos e laboratoriais são mais frequentes nos pacientes que apresentam alterações na função renal: hipertensão arterial, lombalgia, leucocitúria, hematúria, hipomagnesemia, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia.
4. Verificar o envolvimento do óxido nítrico na nefropatia IDV-induzida, mensurando a excreção urinária de seus metabólitos, e comparando com um grupo de pacientes tratados com efavirenz (inibidor de transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo).

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Pacientes

No período compreendido entre março de 2000 e outubro de 2003 foram convidados a participar do nosso estudo 50 pacientes do ambulatório de HIV/AIDS do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, os quais estavam em seguimento ambulatorial de rotina neste serviço. Destes, 36 pacientes finalizaram os procedimentos de avaliação da função renal do estudo. Foram estabelecidos os seguintes critérios de inclusão:

- a) pacientes com infecção pelo HIV, de ambos os sexos e idade > 18 anos;
- b) serem assintomáticos ou com diagnóstico pregresso de AIDS, porém não apresentarem doenças definidoras que necessitem tratamento no momento do estudo;
- c) estar em uso de HAART, com indinavir (IDV) sendo o inibidor de protease do esquema há pelo menos 12 meses;
- d) não estar em uso de determinadas drogas nefrotóxicas, tais como anfotericina B, aciclovir, pentamidina e aminoglicosídeos.

Todos os pacientes que preencheram os critérios acima receberam explicações detalhadas a respeito do estudo, seus procedimentos, seus possíveis benefícios ou eventuais riscos, tendo total liberdade para participar ou retirar sua participação a qualquer momento, sem qualquer prejuízo à qualidade do seu atendimento ambulatorial. O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da diretoria clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Antes que os procedimentos do estudo fossem iniciados, aplicamos o termo de consentimento livre e esclarecido a cada paciente recrutado, o qual foi fornecido por escrito, segundo as normas do Instituto de Infectologia Emílio Ribas e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ANEXO A).

Um outro grupo de pacientes também em tratamento para a infecção pelo HIV foi utilizado como controle para comparar a excreção urinária dos metabólitos do óxido nítrico com 18 pacientes do grupo IDV. Este grupo foi composto por 08 pacientes em uso de HAART, cujo regime era constituído por efavirenz (EFV - um inibidor de transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo - ITRNN) associado a dois inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos.

Com relação aos 36 pacientes em uso de IDV, também estavam em uso de dois inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos, assim distribuídos: 16 pacientes em uso de D4T + 3TC (estavudina + lamivudina), 15 pacientes em uso de AZT + 3TC (zidovudina + lamivudina), 4

pacientes em uso de D4T + ddl (estavudina + didanosina) e 1 paciente em uso de AZT + ddl. A dose do indinavir em 35 pacientes era a *standard* de 800 mg de 8/8h, enquanto somente um paciente fazia uso de associação com ritonavir (RTV) nas doses de 800 mg de IDV 2x/dia + 100mg de RTV 2x/dia.

Do ponto de vista clínico, a classificação dos pacientes segundo o critério CDC/1993 era a seguinte: 19 pacientes A, 10 pacientes C e 7 pacientes B.

Todos os pacientes eram seguidos regularmente a cada 60 dias, e monitorados laboratorialmente segundo os critérios do Ministério da Saúde, com relação aos parâmetros imunológicos (contagem de linfócitos T-CD4+) e virológicos (carga viral) da infecção pelo HIV.

Uma vez fornecido o consentimento livre e esclarecido, todos os pacientes do grupo indinavir (IDV) foram submetidos ao protocolo que será descrito a seguir.

3.2 Métodos

3.2.1 Desenho do estudo

O estudo envolveu uma análise de corte transversal combinada com uma análise longitudinal retrospectiva. Os prontuários de todos os pacientes foram avaliados, em busca de dados demográficos, clínicos e laboratoriais: sexo, idade, tempo de infecção (diagnóstico), tempo de uso da droga (IDV),

categoria clínica (CDC/1993), co-infecção pelo vírus da hepatite C, diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica, presença de lombalgia, parâmetros imunológicos e virológicos (contagem de linfócitos T-CD₄⁺ e carga viral plasmática), além do uso de profilaxias primárias ou secundárias para pneumocistose (PCP) e/ou neurotoxoplasmose (NTX), com sulfametoxazol-trimetoprim ou sulfadiazina, no período de avaliação do estudo.

3.2.2 Dosagens bioquímicas

Os seguintes parâmetros bioquímicos (ANEXO B e C) foram determinados pelo menos uma vez, no período de seguimento ambulatorial dos pacientes (amostras de sangue):

- creatinina (valor normal= 0,4 a 1,5 mg/dl; método colorimétrico).
- uréia (valor normal= 10 a 50 mg/dl; método enzimático automatizado).
- sódio (valor normal= 135 a 150 mEq/L; método eletrodo seletivo).
- potássio (valor normal= 3,5 a 5,0 mEq/L; método eletrodo seletivo).
- magnésio (valor normal= 1,5 a 2,4 mg/dl; método colorimétrico automatizado).
- colesterol total (valor normal= 140 a 220 mg/dl; método enzimático-colorimétrico automatizado).
- triglicérides (valor normal= 50 a 150 mg/dl; método enzimático colorimétrico automatizado).

As determinações de sódio e potássio urinários foram efetuadas em fotômetro de chama, modelo 143 da Instrumentation Laboratories, Inc.

As dosagens de creatinina urinária para cálculo de *clearance* de creatinina foram realizadas pelo método de Jaffé.

3.2.3 Análise do sedimento urinário

Dos 36 pacientes em uso de IDV, 32 forneceram amostras de urina para exame do sedimento urinário no laboratório do IIER (verificar presença de hemáturia e/ou leucocitúria).

3.2.4 Parâmetros renais calculados

Solicitamos aos pacientes em uso de IDV que realizassem uma coleta de urina de 24 horas, a qual foi orientada verbalmente em consulta e através de um informativo especialmente preparado para este fim. Na manhã do final do período de coleta, a urina de 24h era entregue no ambulatório do IIER, sendo imediatamente guardada em geladeira para posterior mensuração do volume urinário total através de provetas. Neste momento, os pacientes também realizaram coleta de amostras de sangue para dosagens de sódio, potássio, uréia e creatinina. Cerca de 15 ml de urina foram separados e guardados para as dosagens bioquímicas urinárias e para determinação da osmolaridade.

A osmolaridade foi determinada através de osmômetro modelo 3D3 da *Advanced Instruments, Inc.* (Norwood, MA).

Com os resultados da bioquímica sérica e urinária, calculamos os seguintes parâmetros (ANEXOS D e E):

- *clearance* de creatinina (CICr), calculado através da fórmula UV/P , onde U é a concentração urinária de creatinina em mg/dl, V representa o volume urinário exposto em ml/min e P a concentração sérica de creatinina em mg/dl;
- fração de excreção de água (FEH₂O), calculada através da fórmula $V/CICr$ (%), onde V representa o volume urinário exposto em ml/min e CCr o *clearance* de creatinina;
- fração de excreção de sódio (FENa), calculada através da fórmula $(UNa/PNa)/(UCr/PCr) \times 100$ (%), onde UNa é a concentração urinária de sódio em mEq/L, PNa é a concentração plasmática de sódio em mEq/L, UCr representa a concentração urinária de creatinina em mg/dl e PCr a concentração plasmática de creatinina em mg/dl;
- fração de excreção de potássio (FEK), calculada através de fórmula semelhante à FENa, substituindo-se o sódio pelo potássio.

3.2.5 Excreção urinária dos metabólitos do óxido nítrico (nitrito e nitrato)

Avaliamos a produção do óxido nítrico (NO) através da mensuração da concentração urinária de nitrato (NO_3^-) em 18 pacientes em uso de IDV, usando como controle 8 pacientes em uso de EFV (ANEXO F). A excreção urinária de nitrito (NO_2^-) não apresentou resultados detectáveis nos dois grupos.

Para a realização da dosagem de nitrato urinário, os pacientes forneceram duas alíquotas de 2ml de urina, as quais foram imediatamente congeladas à -18° . Posteriormente, foram encaminhadas ao laboratório para mensuração da excreção de NO_3^- através de reação de quimioluminescência entre ozônio e óxido nítrico gerado pela redução da amostra com cloreto de vanádio em ácido (95°C), utilizando-se o aparelho NOA (Nitric Oxide Analyzer), modelo 280 da Sievers Instruments (Alves et al., 2002).

Os valores obtidos através do aparelho (em micromol), foram corrigidos pelo cálculo da creatinina urinária pelo método de *Jaffé* em uma das alíquotas fornecidas e descongeladas, e expressos em $\mu\text{M NO}_3^-/\text{mg}$ de creatinina.

3.2.6 Exames de imagem

Análise ultra-sonográfica das vias urinárias foi realizada em 26 pacientes do estudo pelo Serviço de Radiologia do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, sem conhecimento prévio dos resultados de função renal.

3.2.7 Análise estatística

A excreção urinária de NO₃⁻ nos grupos IDV e EFV foi analisada pela Prova de Mann-Whitney, tendo em vista uma distribuição não-homogênea. Os dados foram sumarizados usando-se médias, medianas e porcentagens. Os resultados são apresentados em média \pm desvio padrão. Para verificar a associação de função renal com parâmetros qualitativos que assumem categorias (presença ou ausência de lombalgia, hipertensão arterial) foi utilizado teste do qui-quadrado de homogeneidade, sendo substituído pelo Teste exato de Fisher quando uma das freqüências é muito baixa (sexo, uso ou não de SMX-TMP). Já para os parâmetros que assumem valores numéricos com distribuição homogênea (como idade e peso), utilizamos o teste *t-student* não pareado (Bussab, Morettin, 1987). Foi considerado estatisticamente significativo $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 Características gerais dos pacientes

Em três anos de estudo, avaliamos a função renal de 36 pacientes em tratamento para a infecção pelo HIV com esquemas altamente potentes (HAART), incluindo o inibidor de protease indinavir (IDV) e dois inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN). A filtração glomerular foi estimada pelo cálculo do *clearance* de creatinina (CICr), sendo considerado diminuído um *clearance* < 80 ml/min. Conforme podemos observar na tabela 1, o uso das diferentes associações de ITRN não teve relação com os efeitos do IDV sobre a função renal.

Tabela 1. *Clearance* de creatinina e associações de ITRN nos pacientes do estudo

ITRN	Grupo – <i>clearance</i> de creatinina				Total	
	< 80ml/min		> 80ml/min			
	n	%	n	%	n	%
AZT + 3TC	9	42,9	8	53,3	17	47,2
AZT + DDI	1	4,8			1	2,8
D4T + 3TC	10	47,6	4	26,7	14	38,9
D4T + DDI	1	4,8	3	20,0	4	11,1
Total	21	100,0	15	100,0	36	100,0

Teste do Qui-quadrado: p = 0,292

Dentre os pacientes estudados, 10 foram classificados clinicamente como AIDS, pelo diagnóstico progressivo de infecções oportunistas (IOs). Os resultados dos parâmetros imunológicos e virológicos contidos nas tabelas 2 e 3 não mostraram diferenças entre o grupo com ClCr <80 ml/min e o grupo com ClCr >80 ml/min. A contagem de linfócitos T-CD4+ variou no momento da inclusão dos pacientes de 199 a 1102, mediana = 533 céls/μL vs. 287 a 1461, mediana = 577 céls/μL, respectivamente. Já a carga viral no grupo com função renal normal oscilou de <400 a 17.977 cópias/ml e no grupo com queda da função renal de <400 a 120.000 cópias/ml. Estes dados demonstram que os pacientes encontravam-se estáveis do ponto de vista virológico e imunológico, com boa resposta ao esquema terapêutico utilizado.

Tabela 2. Função renal e linfócitos T-CD4+ nos pacientes do estudo

Grupo – clearance de creatinina	CD ₄ (céls/μL)					
	Média	d.p.	Mediana	Mínimo	Máximo	n
< 80ml/min	528,1	208,5	533	199	1102	21
> 80ml/min	644,9	314,7	577	287	1461	15

Prova de Mann-Whitney: p = 0,304

Tabela 3. Função renal e quantificação da carga viral nos pacientes do estudo

Grupo – clearance de creatinina	Carga Viral (cópias/ml)					
	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Mínimo	Máximo	n
< 80ml/min	ind.	<400	5500	ind.	120000	21
> 80ml/min	ind.	<400	<400	ind.	17977	15

Prova de Mann-Whitney: p = 0,725

Dois pacientes faziam uso concomitante de sulfadiazina 500 mg 6/6h (cinco dias na semana) para profilaxia secundária de neurotoxoplasmose, enquanto outros três pacientes faziam uso de sulfametoxazol-trimetoprim como profilaxia primária para Pneumocistose (3x na semana), como podemos observar na tabela 4. Embora o uso de derivados de sulfa tenha sido pequeno na amostra estudada, tendo em vista os dados imunológicos apresentados, a associação de SMX-TMP ou sulfadiazina está significativamente relacionada aos efeitos nefrotóxicos do IDV.

Tabela 4. Função renal e uso de derivados de sulfa na amostra estudada

Sulfa	Grupo – clearance de creatinina				Total	
	< 80ml/min		> 80ml/min			
	n	%	n	%	n	%
Não	15	71,4	15	100,0	30	83,3
Sim	6	28,6			6	16,7
Total	21	100,0	15	100,0	36	100,0

Teste exato de Fisher: $p = 0,030$ *

A idade dos pacientes variou de 27 a 57 anos (média = 40,3), sendo 8 pacientes do sexo feminino (22,2%) e 28 do sexo masculino (77,8%). Todos frequentam regularmente o ambulatório de DST/AIDS do Instituto de Infectologia Emílio Ribas. Nas suas consultas de rotina, são pesados e obtidas medidas da pressão arterial.

A duração média da terapia com IDV foi de 4,4 anos (variando de 2 – 7 anos) para os pacientes com CíCr <80 ml/min e 5 anos (variando de 2 – 7 anos) para aqueles com CíCr >80ml/min. Esta população compreendia 15 indivíduos com função renal normal infectados pelo HIV numa média de

8,5 ± 0,82 anos e outros 21 pacientes com diminuição do *clearance* de creatinina também infectados por uma média de 8,3 ± 0,49 anos.

Diferenças significativas foram observadas no peso entre os pacientes com função renal normal e aqueles com diminuição do *clearance* de creatinina (79,4 ± 3,15 vs 62,0 ± 2,29, p<0,001), tendo em vista que estes últimos apresentaram menor peso corporal.

Sintomas urológicos (lombalgia) e hipertensão arterial estavam presentes em 8 (38,1%) dos pacientes com queda de função renal (n=21). Já para os pacientes com função renal preservada (n=15), um total de 6 (40%) apresentaram HAS, enquanto outros 4 pacientes (26,78%) queixaram de lombalgia. Não houve diferença significativa nestes parâmetros entre os dois grupos de função renal.

Na tabela 5 apresentamos as características demográficas e clínicas dos pacientes do estudo relacionando-as com a função renal.

Tabela 5. Características demográficas e clínicas dos sujeitos do estudo (n=36)

	CICr > 80 ml/min (n=15)	CICr < 80 ml/min (n=21)	p value
Idade (anos)	41,3 ± 1,7	40,3 ± 1,8	0,727
Sexo			
F/M, n	1/14	7/14	0,104
(%)	(6,7/ 93,3%)	(33,3/66,7%)	
Lombalgia	4 (26,7%)	8 (38,1%)	0,473
HAS	6 (40%)	8 (38,1%)	0,908
Tempo de uso de IDV (anos)	4,7 ± 0,39	4,3 ± 0,36	0,508
Tempo de infecção pelo HIV (anos)	8,5 ± 0,82	8,3 ± 0,49	0,783
Peso (Kg)	79,4 ± 3,15	62 ± 2,29	< 0,001

CICr = *clearance* de creatinina; IDV = indinavir; HAS = hipertensão arterial sistêmica
Dados são expressos em média ± erro padrão, exceto onde indicado.

Avaliamos o grupo estudado (n=36) com relação à co-infecção pelo vírus da hepatite C através de sorologias realizadas rotineiramente e recuperadas dos prontuários médicos destes pacientes. Verificamos que somente 1 paciente (4,7%) pertencente ao grupo com ClCr <80 ml/min era co-infectado, enquanto que 2 pacientes (13,3%) com ClCr >80 ml/min tinham a infecção pelo HCV. Estes dados não foram significativamente diferentes entre os dois grupos.

4.2 Dosagens bioquímicas

Os resultados das avaliações bioquímicas séricas dos pacientes são apresentados na tabela 6. Não encontramos diferenças em relação aos valores de sódio, potássio, magnésio, colesterol total e triglicérides, embora exista uma tendência do grupo com *clearance* de creatinina < 80ml/min à níveis mais altos de colesterol total.

Tabela 6. Parâmetros bioquímicos dos pacientes do estudo

Medida Bioquímica	Clearance Creatinina	N	Média	Desvio Padrão	Erro Padrão	p-value
Mg (mg/dl)	< 80	19	2,15	0,45	0,10	0,495
	> 80	13	2,05	0,33	0,09	
Col. total (mg/dl)	< 80	20	223,8	74,8	16,72	0,089
	> 80	14	187,1	27,5	7,35	
Triglicérides (mg/dl)	< 80	21	276,1	255,6	55,78	0,259
	> 80	14	225,6	54,4	14,53	
Na (mEq/L)	< 80	21	139,4	4,2	0,90	0,710
	> 80	15	138,9	2,3	0,60	
K (mEq/L)	< 80	21	4,15	0,71	0,15	0,374
	> 80	15	4,33	0,35	0,09	

p<0,05

Mg⁺⁺ = magnésio (vn=1,5 a 2,4 mg/dl); colesterol total (vn=140 a 220 mg/dl); triglicérides (50 a 150 mg/dl); Na⁺ = sódio (vn=135 a 150 mEq/L); K⁺ = potássio (vn= 3,5 a 5,0 mEq/L).

4.3 Análise do sedimento urinário

Amostra de urina de 33 pacientes foi submetida à análise do sedimento urinário, sendo que um número expressivo de pacientes apresentava leucocitúria (n=26), não sendo verificada diferença significativa entre os dois grupos de função renal. Os resultados desta avaliação, assim como de hematúria são apresentados respectivamente nas tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Leucocitúria por grupo de função renal na amostra estudada

Leucocitúria	Grupo – clearance de creatinina				Total	
	< 80ml/min		> 80ml/min		n	%
	n	%	n	%		
Ausente	3	15,0	4	30,8	7	21,2
Presente	17	85,0	9	69,2	26	78,8
Total	20	100,0	13	100,0	33	100,0

Teste exato de Fisher: p = 0,393

Tabela 8. Hematúria por grupo de função renal na amostra estudada

Hematúria	Grupo – clearance de creatinina				Total	
	< 80ml/min		> 80ml/min		n	%
	n	%	n	%		
Ausente	13	65,0	10	76,9	23	69,7
Presente	7	35,0	3	23,1	10	30,0
Total	20	100,0	13	100,0	33	100,0

Teste exato de Fisher: p = 0,701

4.4 Parâmetros renais calculados.

Clearance de creatinina < 80 ml/min foi observado em 21 pacientes ($54,2 \pm 3,1$ vs. $107,6 \pm 7,5$ ml/min, $p < 0,001$), o que equivale a 58% dos pacientes tratados com o IDV neste estudo. Com relação aos outros parâmetros (FENa, FEK, FEH₂O, volume urinário e osmolaridade), os resultados são apresentados na tabela 9.

Tabela 9. Análise de função renal nos pacientes do estudo de acordo com *clearance* de creatinina

	CICr > 80 ml/min (n=15)	CICr < 80 ml/min (n=21)	p value
FENa (%)	1,11 ± 0,09	1,41 ± 0,25	0,574
FEK (%)	8,94 ± 0,74	11,71 ± 1,27	0,144
FEH ₂ O (%)	1,29 ± 0,13	2,57 ± 0,38	0,015
V ml/min	1934 ± 123	1607 ± 244	0,023
Osmolaridade	662 ± 63.61	499 ± 50.6	0,042

Dados estão expressos em média ± erro padrão. FENa e FEK, fração de excreção de sódio e potássio, respectivamente; FEH₂O, fração de excreção de água; V, volume urinário de 24 horas; osmolaridade (mOsm); $p < 0,05$.

Podemos observar que o volume urinário foi significativamente menor nos pacientes com CICr <80 ml/min quando comparado com aqueles com CICr >80 ml/min (1607 ± 244 vs. 1934 ± 123 , $p < 0,05$). A osmolaridade urinária diminuída no grupo com queda da função renal em relação ao grupo

com função renal normal ($499 \pm 50,6$ vs. $662 \pm 63,61$ $p < 0,05$) e o aumento significativo da fração de excreção de água no mesmo grupo de pacientes com insuficiência renal ($2,57 \pm 0,38$ vs. $1,29 \pm 0,13$, $p < 0,05$) sugerem ocorrência de lesões tubulares. Não encontramos alteração nos demais parâmetros (FENa e FEK).

4.5 Excreção urinária de nitrato (NO₃-)

A excreção urinária de NO₃⁻ foi significativamente menor no grupo de pacientes tratados com o IDV em relação aos pacientes que recebiam terapia anti-retroviral com o EFV (809 ± 181 vs. 2247 ± 648 , $p < 0,01$), ambos como parte de um esquema altamente potente para tratamento da infecção pelo HIV (HAART). Estes resultados apresentados na figura 2 sugerem que o IDV possivelmente possui um mecanismo vasoconstrictor que deve ser mediado pelo óxido nítrico. Como já citamos anteriormente, o nítrito não apresentou resultados detectáveis na urina dos pacientes de ambos os grupos.

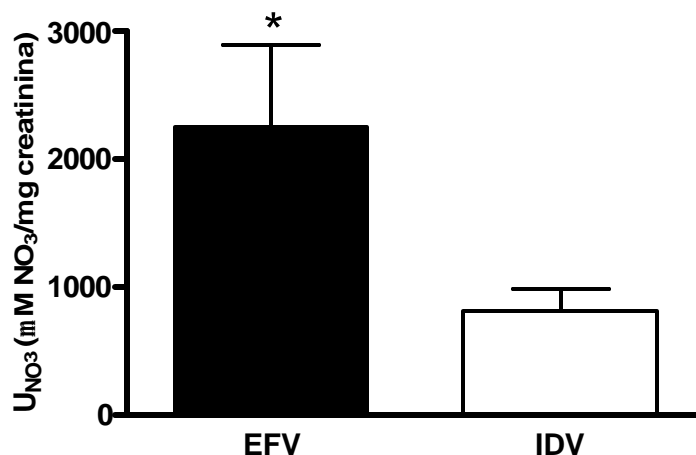


Figura 2 Excreção urinária de nitrato (NO₃-) corrigida pela creatinina urinária em pacientes tratados com IDV (n=18) e em pacientes tratados com EFV (n=8).

4.6 Exames de imagem.

Foram realizados exames ultra-sonográficos das vias urinárias em 26 pacientes do estudo que estavam recebendo terapia anti-retroviral com o IDV, sendo que dentre estes 10 apresentavam alterações diversas descritas abaixo:

- nefropatia parenquimatosa bilateral (2 pacientes).
- hidronefrose (2 pacientes).
- nefrolitíase (4 pacientes).
- alterações renais de aspecto crônico (1 paciente).
- cistos renais (2 pacientes).
- rins com contornos lobulados (1 paciente).

Encontramos um clearance de creatinina diminuído em 6 dos 10 pacientes que apresentavam alterações ultra-sonográficas, sendo que um total de 4 pacientes tinham excreção urinária diminuída de NO₃ -. Os dados destes pacientes são apresentados na tabela 10.

Tabela 10. Achados ultra-sonográficos e excreção urinária de nitrato nos pacientes com queda da função renal (n=6)

Pacientes/tempo de uso de IDV	Clearance de creatinina (ml/mim)	Ultrasonografia	NO₃- (µg NO₃/mg Cr)
ESS/6 anos	40,69	nefropatia parenquimatosa	84
MFS/5 anos	55,82	hidronefrose	133
MAC/7a2m	71,62	nefrolitíase	NR
MOG/6 anos	67,15	cisto renal	1260
LCJr/4 anos	53,56	rins contornos lobulados	270
RSR/3anos	72,54	nefrolitíase + hidronefrose	NR

NR= não realizado.

5. DISCUSSÃO

O Indinavir (IDV) é um anti-retroviral da classe dos inibidores de protease que tem sido amplamente utilizado em associação com outras drogas anti-retrovirais (HAART) para o tratamento dos pacientes infectados pelo HIV, sendo capaz de provocar uma profunda e sustentada supressão da replicação viral (Gulik et al. 1997).

Ao lado desta potente atividade anti-retroviral, diversos eventos adversos têm sido descritos ao longo do seu uso clínico. Além do aumento assintomático de bilirrubina indireta (Plosker, Noble, 1999), diversas complicações urinárias foram relatadas: nefrolitíase e cristalúria, nefrite tubulointersticial, hipertensão e atrofia renal (Marroni, 1998; Perazella, 1999; Gagnon et al., 2000; Jarradat et al., 2000; Cattelan et al., 2000). Dieleman et al. (2001), relataram o caso de uma paciente com co-infecção pelo HIV e HCV em uso de IDV que apresentou necrose papilar no rim direito, possivelmente causada por nefrolitíase e nefrite intersticial crônica.

Boubaker et al. (1998) demonstraram que o aumento sustentado da creatinina sérica após uso prolongado de IDV em pacientes infectados pelo HIV é reversível após a retirada da medicação. Van Russon et al. (2002)

também demonstraram em crianças tratadas com o IDV, um aumento na creatinina sérica na ausência de sintomas clínicos de nefrolitíase. Entretanto, os estudos clínicos publicados recentemente somente levantaram hipóteses acerca dos mecanismos da nefropatia induzida pelo IDV.

Em nosso estudo, investigamos inicialmente os efeitos do IDV na dose de 800mg de 8/8 horas sobre a função renal em pacientes tratados em regimes de combinação com análogos de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN). Importante ressaltar que todos os pacientes encontravam-se estáveis clinicamente, sem doenças infecciosas agudas no momento da coleta, acompanhados ambulatorialmente e sem nenhum tratamento recente para infecções oportunistas. Isto significa dizer que nos últimos três anos nenhum deles utilizou as drogas nefrotóxicas citadas anteriormente, além do fato de nenhum deles ter feito uso de anfotericina B em qualquer momento. Nenhum dos pacientes referia uso atual de drogas injetáveis. Dentre os 50 pacientes convidados a participar do estudo, 05 tiveram o IDV suspenso antes dos procedimentos já citados e do consentimento informado devido à eventos adversos relacionados com a droga (nefrolitíase com hidronefrose, hematúria maciça e leucocitúria maciça). Os outros nove tiveram problemas diversos: falha terapêutica, adesão, mudança de local de tratamento ou simples recusa aos procedimentos e assinatura do consentimento.

Dos 36 pacientes avaliados, 21 apresentaram *clearance* de creatinina < 80 ml/min ($54,2 \pm 3,1$ ml/min vs. $107,6 \pm 7,5$ ml/min), totalizando 58% do total e somente 02 apresentaram creatinina sérica acima do limite de

normalidade. Durante todo o seguimento, os pacientes foram orientados a manter uma ingestão hídrica adequada (1.5L nas 24 horas).

Este achado foi de grande relevância, tendo em vista que os estudos em ratos realizados anteriormente (Araujo, Seguro, 2003) também demonstraram que o indinavir diminuiu o *clearance* de inulina.

Com relação aos fatores de risco avaliados e que poderiam predispor às complicações renais do IDV, nos pacientes com função renal diminuída encontramos uma associação com baixo peso e uso de sulfametoxazol-trimetoprim ou sulfadiazina em doses profiláticas. Nenhum dos outros parâmetros estudados apresentou diferença significativa entre os dois grupos. Estes achados coincidem parcialmente com dados previamente publicados (Boubaker et al., 1998; Dieleman et al., 2002), tendo em vista que além do peso e SMX-TMP também sugeriram a idade e climas quentes para risco aumentado de sintomas urológicos. Produção urinária reduzida como consequência de perspiração aumentada é a melhor explicação para a associação entre temperaturas ambientais e sintomas urológicos. Já o baixo peso corporal pode refletir uma baixa distribuição de volume, a qual pode levar à concentrações plasmáticas elevadas do indinavir.

A associação de sulfametoxazol-trimetoprim (SMX-TMP) ou sulfadiazina em doses baixas (profiláticas) ao esquema anti-retroviral incluindo o IDV, elevou o risco de desenvolvimento de nefrotoxicidade. Interações medicamentosas com SMX-TMP podem ocorrer via inibição do metabolismo hepático ou secreção tubular renal, provocando uma nefrite intestinal aguda. Aproximadamente 30% de uma dose oral de SMX é

excretada inalterada na urina, enquanto o TMP é eliminado em um percentual mais elevado (75%). Estudos clínicos demonstraram que acima de 20% de pacientes com AIDS desenvolvem hipercalemia reversível quando um regime de 20 mg/Kg/dia de SMX-TMP é administrado por mais de uma semana (Greenberg et al., 1993), possivelmente por uma ação amiloride-símile do trimetoprim no túbulo distal.

Araujo, Seguro (2002) demonstraram em modelo experimental que SMX-TMP sozinho produz uma diminuição na função renal, porém o IDV teve um efeito mais potente, diminuindo a filtração glomerular (RFG) e o fluxo sanguíneo renal (FSR), devido a um possível efeito vasoconstrictor (aumento da resistência vascular renal – RVR), e não a um mecanismo de toxicidade tubular direta. Os efeitos deletérios da função renal foram potencializados com a combinação do IDV ao SMX-TMP, que também induziu lesão tubular. Os mecanismos envolvidos no aumento da nefrotoxicidade podem estar relacionados com o metabolismo ou com a excreção de ambas as drogas. A associação do IDV com o SMX-TMP poderia levar a um aumento na concentração plasmática de trimetoprim, resultando em maior nefrotoxicidade. Por outro lado, sendo o trimetoprim um inibidor da secreção renal, poderíamos sugerir que a combinação de ambas as drogas poderia levar a uma excreção diminuída do IDV e concentrações plasmáticas aumentadas do anti-retroviral. Neste mesmo modelo experimental, ao utilizar outro inibidor de protease disponível para tratamento da infecção pelo HIV, o nelfinavir (NFV), sozinho ou em associação com SMX-TMP, os autores não verificaram efeitos nefrotóxicos.

Já a sulfadiazina (uma sulfapiridina) tem sua nefrotoxicidade atribuída a uma rápida excreção urinária com baixa solubilidade, particularmente em meio ácido, resultando conseqüentemente em cristalúria (Rao, 1998). Este evento adverso relacionado à droga usualmente tem excelentes resultados com a ingestão adequada de líquidos para prevenir a cristalização e com a alcalinização da urina (Becker et al., 1996). No entanto, devemos ressaltar que a sulfadiazina é solúvel em soluções alcalinas enquanto o IDV dissolve-se preferencialmente em meio ácido. Estes dados sugerem que a função renal dos pacientes que façam uso de IDV com tais drogas nefrotóxicas deveria ser monitorada.

A leucocitúria não apresentou em nosso estudo diferença estatisticamente significativa entre os grupos com função renal normal e diminuída, tendo em vista que foi encontrada em 26 pacientes de 32 que forneceram amostra de urina para análise. Nossos achados diferem de alguns trabalhos publicados até o momento, nos quais níveis aumentados de creatinina sérica foram fortemente associados com piúria, sugerindo que este achado identificaria aqueles pacientes com maior risco para disfunção renal (Boubaker et al., 1998; Sarcletti et al., 2000; Gagnon et al., 2000). Todos reforçam a necessidade de uma hidratação ampla, até mesmo acima da quantidade recomendada, além da necessidade de monitorização da função renal, para prevenir a progressão da insuficiência renal. Nossos resultados demonstram que a leucocitúria estava presente em quase todos os pacientes, não podendo por isto ser usada como um preditor de risco de insuficiência renal.

Hematúria foi encontrada em 10 pacientes, sendo causa de suspensão da terapia em duas pacientes do sexo feminino, com nefrolitíase associada. Outros 3 pacientes com hematúria também tiveram episódios de nefrolitíase, tratados clinicamente e com eliminação dos cálculos, sem terem sua terapia descontinuada ou modificada. Sarcletti et al. (2000) não encontraram associação entre microhematúria e níveis aumentados sustentados de creatinina sérica, sugerindo que episódios de nefrolitíase podem levar a um aumento transitório de creatinina sérica e microhematúria.

Apesar de Boubaker et al. (1998) sugerirem que poderia haver uma correlação entre maior tempo de infecção e desenvolvimento de nefropatia IDV-associada, não encontramos correlação entre estes parâmetros em nossos pacientes. Da mesma forma, não encontramos na população geral do estudo uma taxa de co-infecção pelo HCV significativa, apesar da insuficiência hepática nestes pacientes co-infectados aumentar o risco da nefropatia associada ao IDV como consequência de concentrações mais elevadas e eliminação mais lenta da droga.

A análise bioquímica de colesterol total, triglicérides, sódio, potássio e magnésio, também não mostrou diferenças estatísticas significativas entre os dois grupos. Houve uma tendência do grupo com $\text{ClCr} < 80 \text{ml/min}$ apresentar níveis mais elevados de colesterol total, o que pode estar relacionado também com uma redução da síntese de NO nestes pacientes.

O magnésio (Mg), um cátion predominantemente intracelular, caracteriza-se por ser um potente agente vasodilatador com ação relaxante na musculatura lisa.

Existem estudos controversos sobre a ação vasodilatadora do magnésio ser mediada pelo óxido nítrico (NO) ou por bloqueio dos canais de cálcio. Yang et al. (2000) mostraram em aorta de ratos que a concentração extracelular de magnésio produz ambos relaxamento dependente e independente do endotélio. O primeiro é mediado por NO, cuja liberação é dependente de cálcio. De outro lado, Teragawa et al. (2001) mostraram que a infusão intra-coronariana de magnésio causa vasodilatação das coronárias humanas sem mediação de NO.

Araujo, Seguro (2003) demonstraram em ratos que o magnésio protege contra a nefrotoxicidade do indinavir (IDV) e que esta proteção não é mediada pelo NO, tendo em vista que não foi bloqueada pela administração de L-NAME (um bloqueador da síntese de NO).

O magnésio pode estar diminuído em pacientes com AIDS que fazem uso de drogas que aumentam a sua excreção, tais como a anfotericina B, o forscarnet e a pentamidina. Nestes casos, dieta rica em magnésio ou até mesmo a sua suplementação oral poderiam ser recomendadas. No nosso estudo, tendo em vista a estabilidade clínica dos pacientes e ausência de tratamentos para infecções oportunistas com as drogas citadas anteriormente, não observamos deficiência de magnésio. No entanto, o controle laboratorial deste cátion torna-se de grande importância no acompanhamento dos pacientes infectados pelo HIV.

Nos estudos de função renal realizados nos pacientes deste estudo, verificamos que nos pacientes com $\text{ClCr} < 80 \text{ml/min}$ a FEH_2O estava claramente elevada enquanto a osmolaridade urinária encontrava-se

diminuída, quando comparados com o grupo com $\text{ClCr} > 80 \text{ml/min}$, dados que indicam a presença de lesão tubular, mecanismo apontado como provável em estudos anteriores.

5.1 A excreção urinária de nitrato

Como já citamos anteriormente, o óxido nítrico (NO) é um gás derivado do aminoácido L-arginina (L-arg) na presença da enzima óxido nítrico sintase (NOS). Desempenha um papel importante em múltiplos processos renais, incluindo regulação do fluxo sanguíneo renal (RPF), taxa de filtração glomerular (RFG), liberação de renina-angiotensina²² e excreção de sódio (Gabbai, Blantz, 1999).

As primeiras evidências de que o NO participa na regulação da função renal são oriundas de experiências nas quais a infusão intra-renal de acetilcolina provocava vasodilatação acompanhada de aumento da diurese, natriurese e fluxo sanguíneo renal (Baylis et al., 1976).

Vários estudos caracterizaram uma família de enzimas capazes de sintetizar o NO – as NO sintases (NOS) – enzimas citosólicas que existem em várias isoformas, são dependentes de NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo-fosfato) e oxigênio molecular, sendo que todas as isoformas utilizam L-arginina como substrato para produzir NO (Moncada et al., 1991). NOS constitutiva (NOS_c – ou sintase I), regulada por Ca^{2+} e calmodulina, representa um mecanismo transdutor de guanilato-ciclase presente

principalmente no endotélio vascular, plaquetas e no SNC. Através da via constitutiva são produzidos níveis modestos de NO, em pulsos de curta duração, porém suficientes para manter o tônus vascular basal do sistema cardiovascular.

NOS induzível (NOS_i – ou sintase ee), independente de Ca²⁺ e calmodulina, representa mecanismo efetor de fenômenos imunológicos, sendo induzida por estímulos imunológicos de neutrófilos, lipopolissacárides e interleucina-1 secretada pelos macrófagos, células de Kupffer, mastócitos, células musculares lisas e pelo próprio endotélio. Esta via promove liberação prolongada de quantidades nanomolares de NO, estando presente por exemplo no choque séptico.

A NOS_c foi identificada na mácula densa e no aparelho justaglomerular. Já a NOS_i, estimulada por citocinas e endotoxinas, foi encontrada em células mesangiais, em túbulos proximais e no ducto coletor medular interno. NOS também foi identificada em várias outras células do rim, incluindo células intersticiais mesangiais e porção espessa da alça de Henle.

A cortical renal é cerca de dez vezes mais irrigada que a medular, que no entanto apresenta um grande consumo de O₂ devido ao transporte ativo de sódio e cloro na porção espessa da alça de Henle. Situações onde há comprometimento endotelial com prejuízo da síntese de NO favorecem o estabelecimento de lesão medular e insuficiência renal (como no uso de radiocontraste).

A medular renal é a região mais susceptível à isquemia renal, sendo a produção de NO e prostaglandinas fundamentais para proteger o rim da injúria medular. O NO participa no balanço da oxigenação medular, tendo um importante papel na prevenção da lesão medular isquêmica. O uso isolado de L-arginina provoca vasodilatação renal e aumenta a natriurese. Diversos estudos mostraram o papel protetor da administração do aminoácido L-arginina na insuficiência renal aguda por nefrotoxicidade (Assis et al.,1997; Andrade et al., 1998; Araujo et al.,2003).

O $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ (NO_x) são produtos estáveis da oxidação do NO e são aceitos como índices de produção do NO *in vivo* (Bank, Aynedjian, 1993). Utilizando indivíduos saudáveis, Kurioka et al. (1999) mensuraram a concentração urinária de NO_2^- e NO_3^- pelo método de Griess, sendo o nitrato (NO_3^-) estimado como 1023-2818 $\mu\text{mol/mg Cr}$. Nossos resultados mostraram uma excreção urinária de NO_3^- (nitrato) significativamente menor nos pacientes tratados com IDV (809 ± 181) quando comparados com o grupo tratado com EFV (2247 ± 6848), $p < 0,01$.

Estes dados demonstram que o inibidor de protease indinavir (IDV) provocou uma queda da função renal na amostra estudada, com diminuição da excreção urinária de nitrato nestes pacientes, através de um provável mecanismo vasoconstrictor que deve ser mediado pelo NO. Nós propomos, com base nos resultados apresentados, que pacientes em uso de HAART incluindo o IDV tenham sua função renal periodicamente monitorada através de *clearance* de creatinina, tendo em vista que não encontramos aumento significativo na creatinina sérica no grupo com insuficiência renal.

Recomendamos ainda evitar a associação do IDV com drogas potencialmente nefrotóxicas, como o SMX-TMP e a sulfadiazina. Ao contrário de outros autores, verificamos que a retirada precoce do IDV é desnecessária, tendo em vista que o dano renal muitas vezes é reversível após a retirada da droga, conforme observamos em quatro pacientes deste estudo que foram descontinuados por nefrolitíase ou falência virológica.

Acreditamos que, num momento em que a terapia anti-retroviral vem sendo cada vez mais associada à eventos adversos, torna-se de fundamental importância reconhecer, monitorar e sempre que possível prevenir ou tratar estas intercorrências clínicas. Maiores estudos na área de prevenção, como estimular a produção de NO, podem poupar o futuro abandono de drogas que têm sido extremamente eficazes no controle de doenças como a AIDS.

6. CONCLUSÕES

1. O indinavir em esquemas HAART para o tratamento da infecção pela HIV foi deletério para a função renal na amostra estudada.
2. Os efeitos nefrotóxicos do indinavir foram potencializados pelo uso de SMX-TMP e por baixo peso, não havendo alterações significativas em relação aos seguintes fatores estudados: idade, sexo, tempo de infecção, tempo de uso da droga e co-infecção pelo vírus da hepatite C.
3. Os pacientes que apresentaram queda na função renal não apresentaram com mais freqüência hipertensão arterial, lombalgia, leucocitúria, hematúria, hipomagnesemia, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, quando comparados àqueles com função renal normal.
4. Tais efeitos nefrotóxicos, além de alterações tubulares demonstradas por menor osmolaridade e maior FEH₂O, devem ser mediados pelo óxido nítrico (NO), através de um mecanismo vasoconstrictor, tendo em vista a excreção urinária diminuída de um dos seus metabólitos (nitrito – NO₂⁻) nos pacientes tratados com IDV quando comparados aos pacientes em uso de EFV.

7. ANEXOS

ANEXO A

Termo de consentimento livre e esclarecido

Título da pesquisa: Alterações na função renal em pacientes HIV/AIDS tratados com esquemas terapêuticos incluindo indinavir .

Investigadora Principal: Dra. Margareth da Eira

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Seguro

2. Dados de identificação do sujeito da pesquisa ou responsável legal

1. Nome do paciente: _____

Documento de identidade nº: _____ Sexo: M () F ()

Data de nascimento: ___/___/___

Endereço: _____ Nº _____ apto _____

Bairro: _____ Cidade: _____

CEP: _____ Telefone () _____

2. Responsável legal: _____

Natureza (grau de parentesco ou tutor): _____

Documento de identidade nº: _____ Sexo: M () F ()

Data de nascimento: ___/___/___

Endereço: _____ Nº _____ apto _____

Bairro: _____ Cidade: _____

CEP: _____ Telefone () _____

Você, paciente em seguimento no ambulatório do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, está sendo convidado a participar voluntariamente (ou seja, sem remuneração e sem obrigatoriedade) de um Projeto de Pesquisa para avaliação da função renal após cerca de 48 semanas de uso de esquemas de tratamento para a infecção pelo vírus HIV que contenham o medicamento Indinavir.

Caso você concorde, será solicitado que colha amostra de sangue para análise bioquímica (Na^+ , K^+ , U, C e Mg^{++}), o que corresponderá à cerca de 5 ml de sangue (o equivalente a cerca de 01 colher de sobremesa). Neste mesmo dia também será solicitado que traga ao Hospital coleta de urina de 24 horas iniciada na manhã do dia anterior (será previamente orientado sobre esta coleta). Após a entrega da urina e a coleta do sangue por um auxiliar de enfermagem do ambulatório, fará a aferição do seu peso e altura. Tudo isto será utilizado posteriormente para várias análises da sua função renal. Está ainda previsto a realização de um estudo ultrasonográfico das vias urinárias no serviço de radiologia do Instituto de Infectologia Emílio Ribas.

Os riscos e desconfortos envolvidos serão os mesmos de um seguimento padrão no ambulatório, e envolve possível dor, lesão ou inchaço no local da aplicação da agulha para a coleta de sangue. Nestas situações será fornecida assistência médica e tratamento sempre que necessário.

Os resultados deste estudo podem responder à algumas perguntas científicas relacionadas ao uso prolongado de terapia anti-retroviral (no caso do Indinavir) e beneficiar você, bem como ajudar outras pessoas no futuro com o conhecimento obtido devido à sua participação. Lembramos, entretando, que é possível que não haja benefício direto à sua saúde durante ou após a participação neste estudo.

Caso não concorde em participar, não haverá nenhum prejuízo ao seu acompanhamento normal no Instituto de Infectologia Emílio Ribas. Poderá ainda, retirar a qualquer momento o seu consentimento de participação.

Você poderá ter acesso não só aos dados obtidos como também à todo e qualquer esclarecimento sobre qualquer dúvida que tenha em relação ao estudo.

Os dados obtidos neste estudo poderão ser acessados exclusivamente pelos investigadores (Dra. Margareth da Eira e Dr. Antonio Carlos Seguro), pelo seu médico no ambulatório do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, Comissões de Ética da Instituição e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e autoridades sanitárias do país. Estes resultados também poderão ser apresentados em reuniões ou utilizados para publicações científicas, garantindo-se que sua identidade não será revelada em nenhuma hipótese.

Em caso de dúvidas em qualquer momento durante ou após o estudo, você poderá entrar em contato com a Dra. Margareth da Eira no telefone 3088-8366 ou 3896-1236, no Ambulatório do Instituto de Infectologia Emílio Ribas sito à Av. Dr. Arnaldo, nº 165 – Cerqueira César.

Se você tiver queixas com relação à sua participação neste estudo, poderá ainda ligar para o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Infectologia Emílio Ribas no telefone 3896-1406.

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo investigador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

Nome do paciente (Letra de Forma)

/ /

Assinatura do paciente ou responsável legal

Data

/ /

Assinatura do Investigador Principal

Data

(carimbo ou nome legível)

ANEXO B: Parâmetros bioquímicos dos pacientes do estudo – CICr <80 ml/min

PACIENTES	Mg ⁺⁺	COLESTEROL TOTAL	TRIGLICÉRIDES	Na ⁺	K ⁺	U	Cr
ESS	2,2	290	213	143	3,6	13	1,1
FCF	2,6	291	792	143	4,0	36	0,9
FGV	NR	292	101	140	5,0	38	1,4
RSR	2,0	138	92	138	4,4	23	0,8
AJM	2,0	246	408	144	4,2	31	1,0
AC	1,9	166	172	130	3,5	33	1,3
ACTI	2,5	167	263	149	4,1	48	1,5
PFG	2,4	162	127	139	4,5	24	0,8
VS	1,7	194	87	134	4,7	25	0,9
MAA	2,2	184	102	135	4,6	37	0,5
MOG	2,2	232	175	137	4,0	21	1,0
MAC	2,0	189	197	139	4,2	47	1,7
AVPV	2,3	111	177	142	4,1	43	1,3
VCP	2,0	218	609	139	3,5	38	1,6
STM	1,6	NR	73	137	4,3	30	1,3
AGS	1,5	177	55	141	4,7	18	0,3
MFS	2,6	274	183	144	5,0	19	0,8
JJR	2,2	265	990	136	4,4	43	0,9
LCJr	NR	143	142	138	4,4	33	0,9
JLA	3,4	408	579	142	4,0	41	1,6
IOL	1,5	329	262	137	4,4	39	0,9

Mg⁺⁺ = magnésio (mg/dl); Colesterol total (mg/dl); Triglicérides (mg/dl); Na⁺ = sódio (mEq/L); K⁺ = potássio (mEq/L); U = uréia (mg/dl); Cr = creatinina (mg/dl).
NR= não realizado.

ANEXO C: Parâmetros bioquímicos dos pacientes do estudo – CICr >80 ml/min

PACIENTES	Mg ⁺⁺	COLESTEROL TOTAL	TRIGLICÉRIDES	Na ⁺	K ⁺	U	Cr
HJS	2,7	209	235	137	4,0	36	1,1
JRL	NR	172	224	136	4,1	23	1,3
JMR	2,1	149	283	134	3,9	49	1,2
LHE	2,2	224	217	140	4,0	50	1,0
MSSts	1,6	175	142	139	4,6	28	1,1
MSSva	1,8	190	232	141	4,0	20	0,5
SCCT	2,4	201	193	140	4,7	40	0,9
SASM	2,3	226	276	136	4,3	47	0,9
ABM	2,1	NR	NR	140	4,4	40	1,2
JRP	1,8	175	201	137	4,1	30	0,9
FCN	1,5	173	337	140	4,7	35	1,2
CRF	2,0	199	255	140	4,7	36	1,0
LAC	2,1	140	172	142	4,2	40	1,3
EF	2,0	164	250	140	5,0	30	1,1
JAH	NR	222	142	141	4,6	32	1,0

Mg⁺⁺ = magnésio (mg/dl); Colesterol total (mg/dl); Triglicérides (mg/dl); Na⁺ = sódio (mEq/L); K⁺ = potássio (mEq/L); U = uréia (mg/dl); Cr = creatinina (mg/dl).
NR= não realizado.

**ANEXO D: Estudos de Função Renal em pacientes em uso de IDV (HAART) –
CICr <80 ml/min**

PACIENTE	DATA	V.URINARIO (24Horas)	CLEARANCE CREATININA	OSM	FE H2O	FE Na	FE K
ESS	27/03/00	3.080	40,69	262	5,25	2,86	8,76
FCF	14/11/01	800	25,43	507	2,16	1,58	10,81
FGV	23/04/01	2.000	19,83	327	7	2,55	22,42
RSR	12/12/01	1.680	72,54	566	1,61	1,20	9,88
AJM	13/08/01	2.730	55,52	408	3,4	1,94	8,10
AC	24/04/00	1.460	69,78	556	1,45	0,94	12,81
ACTI	28/06/00	1.300	46,00	300	1,96	1,02	6,85
PFG	25/03/02	1.100	59,40	614	1,28	0,89	10,23
VS	22/03/01	860	79,83	961	0,74	0,84	6,4
MAA	16/10/00	500	54,18	1120	0,64	0,80	5,18
MOG	30/04/01	1.000	67,15	580	1,02	1,04	7,7
MAC	24/05/02	3.030	71,62	347	2,37	0,89	13,59
AVPV	25/06/01	1.480	53,45	423	1,92	0,89	14,09
VCP	08/10/01	1.980	44,08	366	3,10	1,95	19,54
STM	01/07/02	840	50,55	619	1,14	0,89	10
AGS	22/08/00	980	17,36	490	3,91	4,49	24,16
MFS	19/09/00	5.000	55,82	330	6,21	4,72	10,38
JJR	06/01/03	705	60,43	606	0,79	0,68	7,39
LCJr	03/01/03	2.300	53,56	202	2,96	1,05	11,46
JLA	20/01/03	1.950	41,65	221	3,24	0,97	25,12
IOL	24/06/03	1.370	54,09	659	1,75	1,22	14,75

V. urinário (ml); Clearance de creatinina (ml/min); OSM (mOsm); FEH₂O = fração de excreção de água (%); FENa = fração de excreção de sódio (%); FEK = fração de excreção de potássio (%).

**ANEXO E: Estudos de Função Renal em pacientes em uso de IDV (HAART) –
CICr >80 ml/min**

PACIENTE	DATA	V.URINARIO (24Horas)	CLEARANCE CREATININA	OSM	FE H2O	FE Na	FE K
HJS	03/03/00	1.580	114,61	881	0,95	1,07	6,61
JRL	28/04/00	1.950	80,56	669	1,68	1,73	11,62
JMR	17/04/00	1.630	103,75	705	1,09	1,18	12,31
LHE	14/04/00	1.160	125	1,076	0,64	0,99	9,40
MSSts	28/07/03	2.040	99,10	581	1,42	1,16	12,36
MSSva	11/07/01	1.510	90,42	554	1,15	0,92	10,14
SCCT	27/11/00	1.800	96,44	964	1,29	1,78	14,50
SASM	06/08/01	1.870	98,72	908	1,30	1,55	9,72
ABM	17/03/03	2.950	88,31	438	2,31	1,27	7,3
JRP	08/10/03	1800	186	820	0,65	0,81	5,78
FCN	23/12/02	2.120	82,93	368	1,77	1,02	8,29
CRF	18/03/02	2.340	147,38	406	1,09	0,68	8,88
LAC	07/04/03	2.740	88,30	273	2,15	0,98	7,18
EF	19/05/03	2.080	128	449	1,09	0,57	4,35
JAH	24/06/03	1.440	134	848	0,74	0,94	5,67

V. urinário (ml); Clearance de creatinina (ml/min); OSM (mOsm); FEH₂O = fração de excreção de água (%); FENa = fração de excreção de sódio (%); FEK = fração de excreção de potássio (%).

ANEXO F: Excreção urinária de nitrato ($\mu\text{g NO}_3/\text{mg creatinina}$) por grupo de pacientes e tempo de uso dos anti-retrovirais

PACIENTES	NO₃-	IDV – TEMPO DE USO	EFV – TEMPO DE USO
NRG	5849	-	3
MAL	1226	-	3
ACS	3569	-	2,5
JMS	449	-	2
EMC	809	-	3,5
FFS	3167	-	3
AGM	1865	-	3
MRC	1048	-	3,5
JRP	370	3,8	-
JAH	288	4	-
ABM	1338	7	-
ESS	84	6	-
SSCT	3449	5	-
AVPV	804	5	-
MSSts	747	5	-
FCN	299	3,5	-
MFS	133	5	-
PFG	1311	4	-
MSSva	437	4	-
LHE	931	5,6	-
CRF	896	4	-
MOG	1260	6	-
AGS	644	4	-
FCF	430	5	-
JLA	880	4	-
LCJr	270	4	-

IDV = indinavir; EFV = efavirenz; tempo de uso (anos).

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alves GM, Barão MA, Odo LN, Gomes GN, Franco MCP, Nigro D et al. L-arginine effects on blood pressure and renal function of intrauterine restricted rats. *Pediatr Nephrol* 2002;17:856-62.
2. Andersson S, Norrgren H, Silva Z, Biague A, Bamba S, Kwok S, et al. Plasma viral load in HIV-1 and HIV-2 singly and dually infected individuals in Guinea-Bissau, West Africa. Significantly lower plasma virus set point in HIV-2 infection than in HIV-1 infection. *Arch Intern Med* 2000;160:3286-93.
3. Andrade L, Campo SB, Seguro AC. Hypercholesterolemia aggravates radiocontrast nephrotoxicity: Protective role of L-arginine. *Kidney Intern* 1998;53:1736-42.
4. Araujo M, Seguro AC. Trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP/SMX) potentiates indinavir nephrotoxicity. *Antiviral Ther* 2002;7:181-4.
5. Araujo M, Seguro AC. Vasodilatador agents protect against indinavir nephrotoxicity. *Antiviral Ther* 2003;8:295-9.
6. Assis SM, Monteiro JL, Seguro AC. L-arginine an allopurinol protect against cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation* 1997;63:1070-3.

7. Balani SH, Arison BH, Mathai L, Kauffman LR, Miller RR, Sterns RA, et al. Metabolites of L-735, 524, a potent HIV-1 protease inhibitor, in human urine. *Drug Metab Dispos* 1995;23:266-70.
8. Bank N, Aynedjian HS. Role of EDRF (nitric oxide) in diabetic renal hyperfiltration. *Kidney Intern* 1993;43:1306-12.
9. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Science* 1984;224:500-3.
10. Baylis C, Deen WM, Myers BD. Effects of some vasodilator drugs on transcapillary fluid exchange in renal cortex. *Am J Physiol* 1976;230:1148-58.
11. Becker K, Jablonowski H, Haussinger D. Sulfadiazine-associated nephrotoxicity in patients with the acquired immuno-deficiency syndrome. *Medicine* 1996;75:185-94.
12. Biond ML, Dousa T, Vanhoutte P, Romero JC. Evidences for the existence of endothelium-derived relaxing factor in the renal medulla. *Am J Hypert* 1990;3:876-8.
13. Bodasing N, Fox R. HIV-associated lipodystrophy syndrome: assessment and management. *J Infect* 2003;46:87-93.
14. Bongertz V, Bou-Habib DC, Brígido LF, Caseiro M, Chequer PJ, Couto-Fernan dez JC et al. HIV-1 diversity in Brazil: genetic, biologic, and immunologic characterization of HIV-1 strains in three potential HIV vaccine evaluation sites. Brazilian Network for HIV isolation and characterization. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000;23(2):184-93.

15. Boubaker K, Sudre P, Bally F, Vogel G, Meuwly JY, Glauser MP et al. Changes in renal function associated with indinavir. *AIDS* 1998;12:F249-F54.
16. Brasil. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de DST/Aids. Guia de Tratamento: recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV: 2004 [on line]. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: [URL:http://www.aids.gov.br/final/biblioteca/hiv](http://www.aids.gov.br/final/biblioteca/hiv). Acesso em: Março/2004.
17. Brodie SB, Keller MJ, Ewenstein BM, Sax PE. Variation in incidence of indinavir-associated nephrolithiasis among HIV-positive patients. *AIDS* 1998;12:2433-7.
18. Brodt HR, Kamps BS, Gute P, Knupp B, Staszewski S, Helm EB. Changing incidence of AIDS-defining illnesses in the era of antiretroviral combination therapy. *AIDS* 1997;11: 1731-8.
19. Bussab WO, Morettin PA. *Estatística básica*. 4a ed. São Paulo: Atual;1987.
20. Cao Y, Qin L, Zhang L, Safrit J, Ho DD. Virologic and immunologic characterization of long-term survivors of human immunodeficiency virus type1 infection. *N Engl J Med* 1995;332(4):201-8.
21. Cattelan AM, Trevenzoli M, Naso A, Meneghetti F, Cadrobbi P. Severe hypertension and renal atrophy associated with indinavir. *Clin Infect Dis* 2000;30:619-21.
22. Centers for Disease Control and Prevention. Kaposi's sarcoma and *Pneumocystis* pneumonia among homosexual men – New York City and California. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1981;30:305-8.

23. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for using antiretroviral agents among HIV-infected adults and adolescents. *MMWR Morb Mort Wkly Rep* 2002; 51(RR-7):1-55.
24. Chen SCA, Nankivell BJ, Dwyer DE. Indinavir-induced renal failure. *AIDS* 1998;12:440-1.
25. Chen RY, Westfall AO, Mugavero MJ, Cloud GA, Raper JL, Chathan AG, et al. Duration of highly active antiretroviral therapy regimens. *Clin Infect Dis* 2003;37:714-22.
26. Chun T-W, Engel D, Berrey MM, Shea T, Corey L, Fauci AS. Early establishment of a pool of latently infected, resting CD4+T cells during primary HIV-1 infection. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:8869-73.
27. D'Agati V, Suh JI, Carbone L, Cheng JT, Appel G. Pathology of HIV-associated nephropathy: a detailed morphologic and comparative study. *Kidney Int* 1989;35:1358-70.
28. Daudon M, Estépa L, Viard JP, Joly D, Jungers P. Urinary stones in HIV-1-positive patients treated with indinavir. *Lancet* 1997;1294-5.
29. Deeks SG, Smith M, Holodniy M, Kahn JO. HIV-1 protease inhibitors. A review for clinicians. *JAMA* 1997;277(2):145-53.
30. Detels R, Muñoz A, McFarlane G, Kingsley LA, Margolick JB, Giorgi J, et al. Effectiveness of potent antiretroviral therapy on time to AIDS and death in men with known HIV infection duration. *JAMA* 1998;280:1497-503.

31. Dieleman JP, Gyssens IC, van der Ende ME, de Marie S, Burger DM. Urological complaints in relation to indinavir plasma concentrations in HIV-infected patients. *AIDS* 1999;13:473-8.
32. Dieleman JP, van der Feltz M, Bangma CH, Stricker BHC, van der Ende ME. Papillary necrosis associated with the HIV protease inhibitor indinavir. *Infection* 2001;29:232-3.
33. Dieleman JP, Sturkenboom MCJM, Jambroes M, Gyssens IC, Weverling GJ, ten Veen JH, et al. Risk factors for urological symptoms in a cohort of users of the HIV protease inhibitor indinavir sulfate. *Arch Intern Med* 2002;162:1493-501.
34. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-6.
35. Gabbai FB, Blantz RC. Role of nitric oxide in renal hemodynamics. *Sem Nephrol* 1999;19:242-50.
36. Gabbai FB. Effects of nitric oxide synthase on renal function. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16 Suppl 1:10-3.
37. Gagnon RF, Tecimer SN, Watters AK, Hatzakis GE, Tsoukas CM. The natural history of leukocyturia associated with Indinavir treatment in HIV+ individuals. *Am J Nephrol* 2000;20:448-54.
38. Gallo R, Wong-Staal F, Montagnier L, Haseltine WA, Yoshida M. HIV/HTLV gene nomenclature. *Nature* 1988;333:504.
39. Grabe DW, Eisele G, Miller C, Singh J, Stein D. Indinavir-induced nephropathy. *Clin Nephrol* 1999;51:181-3.

40. Greenberg S, Reiser IW, Chou SY. Hyperkalemia with high-dose trimethoprim-sulfamethoxazole. *Am J Kidney Dis* 1993;22:603-6.
41. Gulick RM, Mellors JW, Havlir D, Eron JJ, Gonzalez C, McMahon D et al. Treatment with indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior antiretroviral therapy. *N Engl J Med* 1997;337:734-9.
42. Gûrtler L. Difficulties and strategies of HIV diagnosis. *Lancet* 1996;348:176-9.
43. Hanabusa H, Tagami H, Hataya H. Renal atrophy associated with long-term treatment with indinavir. *N Engl J Med* 1999;340:392-3.
44. Hu DJ, Dondero TJ, Rayfield MA, George JR, Schochetman G, Jaffe HW, et al. The emerging genetic diversity of HIV. The importance of global surveillance for diagnostics, research, and prevention. *JAMA* 1996;275(3):210-6.
45. Ishii K, Warner TD, Sheng H. Endothelium increases cyclic GMP levels in LLC-PK1 porcine kidney epithelial cells via formation of an endothelium-derived relaxing factor like substance. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 259:1102-8.
46. Jaradat M, Phillips C, Yun MN, Cushing H, Moe S. Acute tubulointerstitial nephritis attributable to indinavir therapy. *Am J Kidney Dis* 2000;35(4):E16.
47. Kaplan JE, Hanson DL, Cohn DL, Karon J, Buskin S, Thompson M, et al. When to begin highly active antiretroviral therapy? Evidence supporting initiation of therapy at CD4+ lymphocyte counts <350 cells/ μ L. *Clin Infec Dis* 2003;37:951-8.

48. Kohan AD, Armenakas NA, Fracchia JA. Indinavir urolithiasis: an emerging cause of renal colic in patients with human immunodeficiency virus. *J Urol* 1999;161:1765-8.
49. Kopp JB, Miller KD, Mican JAM, Feuerstein IM, Vaughan E, Baker C, et al. Crystalluria and urinary tract abnormalities associated with indinavir. *Ann Intern Med* 1997;127:119-25.
50. Krishnan M, Nair R, Haas M, Atta MG. Acute renal failure in an HIV-positive 50-year-old man. *Am J Kidney Dis* 2000;36:1075-8.
51. Kurioka S, Koshimura K, Sugitani M, Murakami Y, Nishiki M, Kato Y. Analysis of urinary nitric oxide metabolites in healthy subjects. *Endocr J* 1999;46:421-8.
52. Marletta MA. Nitric oxide synthase: structure and mechanism. *J Biol Chem* 1993; 268:12231-4.
53. Marroni M, Gaburri M, Mecozzi F, Baldelli F. Acute interstitial nephritis secondary to the administration of indinavir [letter]. *Ann Pharmacother* 1998;32:843-4.
54. Marsdens PA, Ballerman BJ. Tumor necrosis factor alpha activates soluble guanylate cyclase in bovine glomerular mesangial cells via an L-arginine-dependent mechanism. *J Expl Med* 1990;172:1843-52.
55. Martinez F, Mommessa-Marin H, Estepa-Maurice L, Beaufils H, Bochet M, Daudon M, et al. Indinavir crystal deposits associated with tubulointerstitial nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:750-3.
56. Miller V, Staszewski S, Sabin C, Carlebach A, Rottmann C, Weidmann E, et al. CD4 lymphocyte count as a predictor of the duration of highly

- active antiretroviral therapy-induced suppression of human immunodeficiency virus load. *J Infect Dis* 1999; 180:530-3.
57. Mocroft A, Vella S, Benfield TL, Chiesi A, Miller V, Gargalianos P, et al. Changing patterns of mortality across Europe in patients infected with HIV-1. *Lancet* 1998;352:1725-30.
58. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric Oxide: Physiology, Pathophysiology and Pharmacology. *Pharmacological Reviews* 1991;43:109-42.
59. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329(27):2002-12.
60. O'Shaughnessy MV, Schechter MT. Learning about HIV-2. *Lancet* 1994;344:1380-1.
61. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1998;338:853-60.
62. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-6.
63. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988;333:664-6.
64. Perazella MA, Kashgarian M, Cooney E. Indinavir nephropathy in an AIDS patient with renal insufficiency and pyuria. *Clin Nephrol* 1998; 50:194-6.

65. Perazella MA. Cristal-induced acute renal failure. *Am J Med* 1999;106:459-65.
66. Peterson KL, Burman WJ, Yun LW, Cohn DL, Davidson AJ. When to start? The effect of adherence on disease progression after the initiation of combination antiretroviral therapy [Abstract TuPeB4664]. In: *Program and abstracts of the 14th International AIDS Conference (Barcelona)*. Stockholm: International AIDS Society, 2002:431.
67. Phillips AN, Miller V, Sabin C, Lepri AC, Klauke S, Bickel M, et al. Durability of HIV-1 viral suppression over 3.3 years with multi-drug antiretroviral therapy in previously drug-naive individuals. *AIDS* 2001;15:2379-84.
68. Plosker GL, Noble S. Indinavir: a review of its use in the management of HIV infection. *Drugs* 1999;58:1165-203.
69. Rao TKS, Filippone EJ, Nicastrì AD, Landesman SH, Frank E, Chen CK, et al. Associated focal and segmental glomerulosclerosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1984; 310:669-73.
70. Rao TKS. Acute renal failure syndrome in human immunodeficiency virus infection. *Semin Nephrol* 1998;18:378-95.
71. Reiter WJ, Schön-Pernerstorfer H, Dorfinger K, Hofbauer J, Marberger M. Frequency of urolithiasis in individuals seropositive for human immunodeficiency virus treated with indinavir is higher than previously assumed. *J Urol* 1999;161: 1082-4.
72. Rich JD, Ramratnam B, Chiang M, Tashima KT. Management of indinavir associated nephrolithiasis. *J Urol* 1997;158:2228.

73. Saltel E, Angel JB, Futter NG, Walsh WG, O'Rourke K, Mahoney JE. Increased prevalence and analysis of risk factors for indinavir nephrolithiasis. *J Urol* 2000;164:1895-7.
74. Santos OR, Lopes GS, Fernandes MMR. Insuficiência renal aguda na infecção pelo vírus da imunodeficiência humana. In: Cruz J, Barros RT, Cruz HMM, editores. *Atualidades em Nefrologia*. 6a ed. São Paulo: Sarvier; 2000. p.230-45.
75. Sarcletti M, Petter A, Romani N, Lhotta K, König P, Maier H et al. Pyuria in patients treated with indinavir is associated with renal dysfunction. *Clin Nephrol* 2000;54:261-70.
76. Schacker TW, Hughes JP, Shea T, Coombs RW, Corey L. Biological and virologic characteristics of primary HIV infection. *Ann Intern Med* 1998;128:613-20.
77. Shanmugam V, Switzer WM, Nkengasong JN, García-Lerma G, Green TA, Ekpini E, et al. Lower HIV-2 plasma viral loads may explain differences between the natural histories of HIV-1 and HIV-2 infections. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000;24:257-63.
78. Solas C, Basso S, Poizot-Martin I, Ravaux I, Gallais H, Gastaut JA, et al. High indinavir C_{min} is associated with higher toxicity in patients on indinavir-ritonavir 800/100 mg twice-daily regimen. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002;29:374-7.
79. Tashima KT, Horowitz JD, Rosen S. Indinavir nephropathy [letter]. *N Engl J Med* 1997;336:138-40.

80. Teragawa H, Kato M, Yamagata T, Matsuura H, Kajiyama G. Magnesium causes nitric oxide independent coronary artery vasodilation in humans. *Heart* 2001;86:212-6.
81. Van Rossum AMN, Dieleman JP, Fraaij PLA, Cransberg K, Hartwig NG, Burger DM et al. Persistent leukocyturia is associated with impaired renal function in human immunodeficiency virus type 1 - infected children with indinavir. *Pediatrics* 2002;110(2):E19.
82. Vernazza PL, Eron JJ, Fiscus SA, Cohen MS. Sexual transmission of HIV: infectiousness and prevention. *AIDS* 1999;13(2):155-66.
83. Weidle PJ, Ganea CE, Irwin KL, Pieniazek D, McGowan JP, Olivo N, et al. Presence of human immunodeficiency virus (HIV) type 1, group M, non-B subtypes, Bronx, New York: A sentinel site for monitoring HIV genetic diversity in the United States. *J Infect Dis* 2000;181:470-5.
84. Yang CW, Kim YS, Kim J, Kim YO, Min SY, Choi EJ, et al. Oral supplementation of L-arginine prevents chronic cyclosporine nephrotoxicity in rats. *Exp Nephrol* 1998;6:50-6.
85. Yang Z-W, Gebrewold A, Nowakowski M, Altura BR, Altura BM. Mg²⁺ induced endothelium-dependent relaxation of blood vessels and blood pressure lowering: role of NO. *Am J Physiol* 2000;278:R628-R39.
86. Yeh JC, Deutsch PJ, Haddix H, Hesney M, Hoagland V, Ju WD, et al. Single-dose pharmacokinetics of indinavir and the effect of food. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:332-8.