

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA**



**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**ASSOCIAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE DISLIPIDEMIA E  
ANORMALIDADES DE GLICOSE COM O TRATAMENTO  
ANTIRRETROVIRAL EM UMA COORTE DE CRIANÇAS  
INFECTADAS PELO HIV NA AMÉRICA LATINA  
(NISDI/PLACES)**

**MACHLINE PAIM PAGANELLA**

**Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Souza Kuchenbecker**

**Porto Alegre, Fevereiro de 2014**

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



**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**  
**ASSOCIAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE DISLIPIDEMIA E**  
**ANORMALIDADES DE GLICOSE COM O TRATAMENTO**  
**ANTIRRETROVIRAL EM UMA COORTE DE CRIANÇAS**  
**INFECTADAS PELO HIV NA AMÉRICA LATINA**  
**(NISDI/PLACES)**

**MACHLINE PAIM PAGANELLA**

**Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Souza Kuchenbecker**

A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-graduação em Epidemiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, Brasil.  
**2014**

## CIP - Catalogação na Publicação

Paganella, Machline Paim

Associação da incidência de dislipidemia e anormalidades de glicose com o tratamento antirretroviral em uma coorte de crianças infectadas pelo HIV na América Latina (NISDI/PLACES). / Machline Paim Paganella. -- 2014.

90 f.

Orientador: Ricardo de Souza Kuchenbecker.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Crianças. 2. HIV. 3. Inibidores da Protease. 4. Dislipidemia. 5. Glicose. I. Kuchenbecker, Ricardo de Souza, orient. II. Título.

## **BANCA EXAMINADORA**

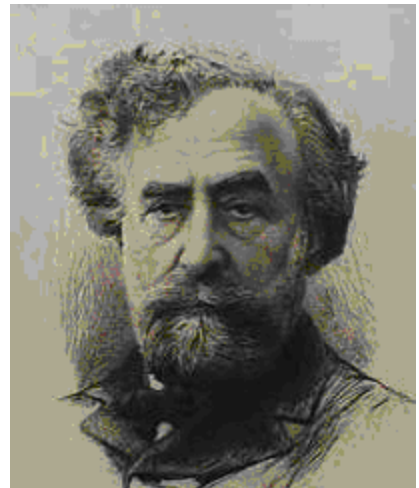
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Nêmora Tregnago Barcellos, Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS

Prof. Dr. Marcelo Zubaran Goldani, Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Prof. Dr. Paulo Ricardo Alencastro, Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA

## MENSAGEM

*“Pediatrics does not deal with miniature men and women, with reduced doses and the same class of disease in smaller bodies, but...has its own independent range and horizon.”* Dr. Abraham Jacobi  
(6 de Maio de 1830 – 10 de Julho de 1919)



## AGRADECIMENTOS

A todas as crianças expostas ou infectadas pelo HIV, que seus futuros sejam de vitória, que a ciência evolua e que possamos vivenciar em breve o final desta epidemia.

Ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da UFRGS, corpo docente, coordenação e secretaria, pelo ensino público e serviço de qualidade. Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo de Souza Kuchenbecker, que acreditou no meu potencial e que representa o modelo de docente a ser seguido, minha admiração sempre. À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vivian Luft, pelo excelente estágio em docência.

Ao Laboratório de Pesquisa em HIV/AIDS – LPHA da Universidade de Caxias do Sul – UCS e toda a sua equipe. Não posso deixar de destacar: Dr. Ricardo da Silva de Souza (*in memoriam*) por me apresentar o mundo da pesquisa. Dra. Rosa Dea Sperhake pelo apoio e por acreditar na capacitação de sua equipe. Os colegas: Mestre Leonardo Rapone da Motta, referência em diagnóstico de HIV no Brasil, Enfermeira Sílvia Mariani Costamilan, exemplo de cuidado com os pacientes, Secretária Cristina Barros da Luz por todo o suporte, e, finalmente, àquele que me incentivou ao mestrado em epidemiologia: Mestre Sérgio Kakuta Kato, pela inspiração e incansável ajuda em Bioestatística.

Aos estudos NISDI, ao seu grupo de pesquisa; ao NICHD, Dr. Rohan Hazra; e Westat Inc. em especial a Rachel Cohen e Dr. Bob Harris pela parceria nesta pesquisa. Destaco novamente, a Mestre Rachel Cohen pela maestria em me guiar pela epidemiologia dos estudos NISDI.

À Dra. Carmem Lúcia Oliveira da Silva, pelo apoio, exemplo de pediatra pelo carinho com seus pacientes.

À minha família, que é tudo para mim. Aos meus pais, Maria Luiza Paim Paganella e Telmo Luiz Paganella, por me ensinar que não se medem esforços quando o assunto é educação. Às minhas irmãs, Genevieve e Tuíra Paim Paganella, exemplos a serem seguidos de mulheres batalhadoras. Ao meu namorado, Isnard Elman Litvin, pelo apoio, motivação e amor. À minha avó Amélia Marques Paganella, que recentemente nos deixou, a qual pediu a seu pai que a deixasse aprender a ler e estudar, e que deve estar orgulhosa de onde sua descendência tem chegado. À Sharon pela alegria plena em me receber.

A todos os meus amigos que torcem por mim e me acompanham pela vida. Aos colegas de mestrado, por toda ajuda e companheirismo nestes dois anos.

A Deus, por me guiar.

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| ABREVIATURAS E SIGLAS .....  | 8  |
| RESUMO .....   | 9  |
| ABSTRACT .....   | 10 |
| 1. APRESENTAÇÃO .....  | 11 |
| 2. INTRODUÇÃO .....  | 12 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA .....   | 16 |
| 3.1 Aspectos Gerais da Epidemiologia da Epidemia do HIV .....  | 16 |
| 3.2 Infecção pelo HIV em Crianças .....  | 18 |
| 3.3 Terapia Antirretroviral em Crianças .....  | 21 |
| 3.4 Dislipidemia, TARV e Infecção pelo HIV em crianças. ....   | 28 |
| 3.5 Anormalidades de glicose, TARV e Infecção pelo HIV em crianças. ....   | 32 |
| 4. OBJETIVOS .....   | 37 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....  | 38 |
| 6. ARTIGO .....  | 43 |
| 7. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS .....   | 68 |
| 8. ANEXOS .....  | 70 |
| a. Aprovação pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP e<br>Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UCS ..... | 71 |
| b. <i>Concept Sheet</i> .....  | 73 |
| c. <i>Paper Appendix - PED-23: Results of Kaplan-Meier Analyses</i> .....  | 87 |



## ABREVIATURAS E SIGLAS

|         |   |
|---------|---|
| AIDS    | Síndrome da Imunodeficiência Adquirida  |
| ANVISA  | Agência Nacional de Vigilância Sanitária  |
| ARV     | Antirretrovirais  |
| CD4     | Linfócito T CD4   |
| CEP     | Comitê de Ética em Pesquisa   |
| CONEP   | Comissão Nacional de Ética em Pesquisa  |
| DDAHV   | Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais  |
| DST     | Doença Sexualmente Transmissível  |
| EFZ     | Efavirenz   |
| FDA     | <i>Food and Drug Administration</i>   |
| FPV/r   | Fosamprenavir com reforço de Ritonavir  |
| FRC     | Formulário de Registro de Caso  |
| HAART   | <i>Highly Active Antiretroviral Therapy</i>   |
| HDL     | Lipoproteína de alta densidade  |
| HIV     | Vírus da Imunodeficiência Humana  |
| IF      | Inibidor de Fusão   |
| II      | Inibidor da Integrase   |
| IP      | Inibidor da Protease  |
| IP/r    | Inibidor da Protease com reforço de Ritonavir   |
| ITRN    | Inibidor da Transcriptase Reversa Análogo de Nucleosídeo                                |
| ITRNN   | Inibidor da Transcriptase Reversa Não-Análogo de Nucleosídeo                            |
| LDL     | Lipoproteína de baixa densidade   |
| LPV/r   | Lopinavir / Ritonavir   |
| MS      | Ministério da Saúde   |
| NDIC    | <i>National Diabetes Information Clearinghouse</i>                                      |
| NICHD   | <i>Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development,</i> |
| NIH     | <i>National Institutes of Health</i>  |
| NISDI   | Iniciativa Internacional de Desenvolvimento de Sítios de Pesquisa do NICHD              |
| NVP     | Nevirapina  |
| OMS/WHO | Organização Mundial da Saúde/ <i>World Health Organization</i>                          |
| RI      | Resistência à Insulina  |
| TARV    | Terapia Antirretroviral   |
| UCS     | Universidade de Caxias do Sul   |
| UNAIDS  | <i>Joint United Nations Program on HIV/AIDS</i>   |

## RESUMO

Objetivo(s): Estimar a incidência de anormalidades metabólicas lipídicas e de glicose e sua associação com a exposição à HAART em regimes incluindo ou não inibidores de protease (IP) em crianças verticalmente infectadas pelo HIV.

Projeto: Estudo de coorte longitudinal.

Métodos: Foram analisados os dados de 500 crianças da coorte NISDI PLACES. Estimou-se a incidência de dislipidemia (colesterol total, HDL, LDL e TG) e anormalidades da glicose (resistência à insulina e diabetes). As curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier foram utilizadas para avaliar o tempo para o desenvolvimento de cada um dos desfechos de acordo com os diferentes regimes de ARV. Um modelo de riscos proporcionais de Cox foi utilizado para avaliar os fatores de risco, considerando o regime ARV utilizado na linha de base e de acordo com o seguimento.

Resultados: Indivíduos que receberam regimes contendo IP apresentaram maior risco de desenvolver níveis de colesterol anormais (HR = 3,0, 95% intervalo de confiança [IC]: 1,2-7,6 , p = 0,022) ; níveis de colesterol LDL (HR = 2,9, IC 95%: 1,01-8,0 , p = 0,047) e triglicerídeos (HR = 2,7, IC 95 % : 1,4-5,0 , p = 0,003) em comparação com aqueles que não recebem ARVs.

Conclusão: As crianças e adolescentes que receberam um esquema antirretroviral contendo IP mostraram risco substancialmente maior para o desenvolvimento de anormalidades de colesterol total, colesterol LDL e triglicerídeos, e baixos níveis de colesterol HDL.

PALAVRAS-CHAVE: crianças, HIV, inibidores da protease, dislipidemia, glicose

## ABSTRACT

**Objective(s):** To estimate the incidence of lipid and glucose metabolic abnormalities and their association with HAART exposure in protease inhibitors (PI) containing and non-PI containing regimens in perinatally HIV-infected children.

**Design:** Longitudinal cohort study.

**Methods:** We analyzed the data of 500 children from the NISDI PLACES cohort. We estimated the incidence of dyslipidemia (TC, HDL, LDL and TG) and glucose abnormalities (Insulin resistance and diabetes). Kaplan-Meier survival curves were used to evaluate the time to development of each outcome according to the different ARV regimens. A Cox proportional hazards model was used to evaluate it as risk factors, considering the ARV regimen used at baseline in the former and the ARV regimen as a time-varying covariate in the latter.

**Results:** Subjects receiving PI-containing regimens showed higher risk of developing abnormal cholesterol levels (HR=3.0, 95% confidence interval [CI]: 1.2-7.6; p=0.022); LDL cholesterol levels (HR=2.9, 95% CI: 1.01-8.0; p=0.047) and triglycerides levels (HR=2.7, 95% CI: 1.4-5.0; p=0.003) comparing to those not receiving ARVs.

**Conclusion:** Children and adolescents receiving a PI-containing regimen ARV showed substantially higher for developing abnormal total cholesterol, LDL cholesterol and triglycerides levels, and low HDL cholesterol levels.

**KEY WORDS:** children, HIV, protease inhibitors, dyslipidemia, glucose

## **1. APRESENTAÇÃO**

Este trabalho consiste na dissertação de mestrado intitulada “Associação da Incidência de Dislipidemia e Anormalidades de Glicose com o Tratamento Antirretroviral em uma Coorte de Crianças Infectadas pelo HIV na América Latina (NISDI/PLACES)”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em 10 de Fevereiro de 2014. O trabalho é apresentado em três partes, na ordem que segue:

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

Documentos de apoio estão apresentados nos anexos.

## 2. INTRODUÇÃO

O presente trabalho é parte da análise de dados do protocolo NISDI PLACES, no qual tive a oportunidade de trabalhar durante os anos de 2006 a 2012. Sendo o NISDI (Iniciativa Internacional de Desenvolvimento de Sítios de Pesquisa do NICHD) uma rede de pesquisas incluindo países da América Latina e do Caribe, a todos os pesquisadores participantes era permitido apresentar *Sheets Concepts* com propostas de estudos e análises dos dados. Assim, em 2011, durante o Encontro Anual do NISDI, tive a oportunidade de conversar com os investigadores principais dos estudos, sobre a possibilidade de utilizar os dados NISDI para a redação de um *Concept Sheet*, que culminou no projeto de meu mestrado e minha dissertação aqui apresentada.

Na rotina do estudo, minha participação incluiu atividades no âmbito da coordenação: monitorar os sítios de pesquisa do "UCS Consórcio de Sítios de Pesquisa" e suas equipes, gerenciar documentos normativos dos locais de pesquisa, gestão da qualidade dos dados coletados e do progresso dos estudos.

O "UCS Consórcio de Sítios de Pesquisa" incluiu os seguintes centros clínicos: Serviço Municipal de Infectologia de Caxias do Sul, em Caxias do Sul, Hospital Conceição, em Porto Alegre, Hospital Femina de Porto Alegre e Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em Porto Alegre. Além do "UCS Consórcio de Sítios de Pesquisa", os estudos NISDI tiveram a participação de outros centros de pesquisa no Brasil – Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, dentre outros –, além de centros de pesquisa em outros países da América Latina como Argentina, Peru e México.

O NISDI foi composto de dois protocolos:

- Protocolos Perinatal e LILAC: Estudo Prospectivo Observacional de Mulheres Grávidas Infectadas pelo HIV e Crianças não Infectadas e Expostas ao HIV em Centros Clínicos em países da América Latina.
- **Protocolos Pediátrico e PLACES: Um estudo prospectivo observacional de crianças infectadas pelo HIV em centros clínicos em países da América Latina.**

A agência de financiamento foi o NICHD - *Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development*, Bethesda, Maryland e o Centro de Coordenação foi Westat, Inc. de Rockville, Maryland.

De 2002 a 2007 os estudos eram divididos em Estudo Pediátrico e Estudo Perinatal. Em 2007 houve uma reformulação nos estudos no intuito de manter no Estudo Pediátrico apenas crianças infectadas pelo HIV. O Estudo Pediátrico passou então a se denominar PLACES, sendo composto por duas coortes: a coorte estática mantinha o acompanhamento das crianças expostas e infectadas pelo HIV já recrutados no Estudo Pediátrico (ou crianças do protocolo Perinatal que vieram a se infectar) desde 2002; a coorte dinâmica passou a recrutar novas crianças infectadas pelo HIV; o acompanhamento foi concluído em 30 de novembro 2011.

O PLACES foi um estudo observacional prospectivo de coorte cujo objetivo era descrever as características demográficas, clínicas, imunológicas e virológicas de crianças infectadas pelo HIV em Centros Clínicos participantes em países da América Latina. A participação nesta coorte do estudo (coorte dinâmica) consistiu aproximadamente em 500 crianças infectadas pelo HIV antes do seu 6º aniversário, e que adquiriram a infecção por HIV através de transmissão da mãe para filho. O estudo objetivou caracterizar as complicações tanto da doença quanto dos seus

tratamentos. Os sujeitos foram avaliados a cada seis meses durante aproximadamente quatro anos e foram realizadas avaliações de crescimento, morbidade, progresso da doença e mortalidade.

Uma ampla variedade de dados foi coletada incluindo: história médica (diagnósticos, internações, medicamentos e vacinas), exame físico, avaliações laboratoriais (incluindo hematologia, citometria de fluxo e ensaios bioquímicos padrão), parâmetros de crescimento, avaliação da morbidade e mortalidade além das avaliações virológicas. Ademais, as células mononucleares do sangue periférico e plasma foram coletadas e armazenadas em um repositório central para possíveis estudos futuros. Os dados adicionais coletados incluíram: adesão ao tratamento antirretroviral; suplementação de vitaminas e minerais; testes de resistência antirretroviral.

O intervalo de coleta de dados também foi padronizado: os dados foram coletados a cada seis meses após o recrutamento. Quanto à metodologia de coleta de dados, os dados foram coletados usando Formulários de Registro de Casos padronizados (FRCs) e projetados especificamente para este estudo. Os profissionais responsáveis pela coleta de dados eram médicos e enfermeiros em cada sítio de pesquisa participante, os quais foram treinados pelo centro de coordenação quanto ao uso e preenchimento adequado dos FRCs. Cada sítio clínico participante desenvolveu métodos de controle de garantia da qualidade para atender as necessidades de seu sítio. Estes planos de garantia da qualidade foram aprovados pelo Centro Coordenador e pelo patrocinador. Além disso, o centro de coordenação realizou visitas anuais de monitoramento de sítios. Nestas visitas, o monitor de pesquisa clínica do centro de coordenação selecionava um número de participantes de forma

aleatória e os FRCs eram revisados de acordo com a documentação fonte (prontuários, relatórios de laboratório, etc.). Ainda, no centro de coordenação, onde a entrada de dados eletrônicos ocorreu, houve verificações visuais e automatizadas dos dados das FRCs; verificações visuais incluíam a revisão das FRCs quanto a erros (por exemplo, perguntas deixadas em branco), e verificações automatizadas incluindo checagens de lógica para garantir a qualidade dos dados. Relatórios mensais foram produzidos para verificar se havia dados discrepantes e para acompanhar os números de recrutamentos. Os dados foram “congelados” a cada seis meses e analisados para identificação de inconsistências através da análise de relatórios, incluindo as estatísticas descritivas e tabulações cruzadas. (NICHD Clinical Studies, NISDI, 2013)

Os estudos NISDI foram aprovados pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e pelo CEP/UCS (Comitê de Ética da Universidade de Caxias do Sul) (Anexo a).

Esta dissertação, reiterando, trata-se de uma análise dos dados da coorte dinâmica do protocolo PLACES, ou seja, pacientes da segunda fase do protocolo NISDI pediátrico (500 pacientes).

#### *CONCEPT SHEET*

O *Concept Sheet* original é anexo (Anexo b) e apresenta os fundamentos e objetivos da análise proposta. A proposta recebeu uma nomeação pelo código Ped23.



### **3. REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 Aspectos Gerais da Epidemiologia da Epidemia do HIV**

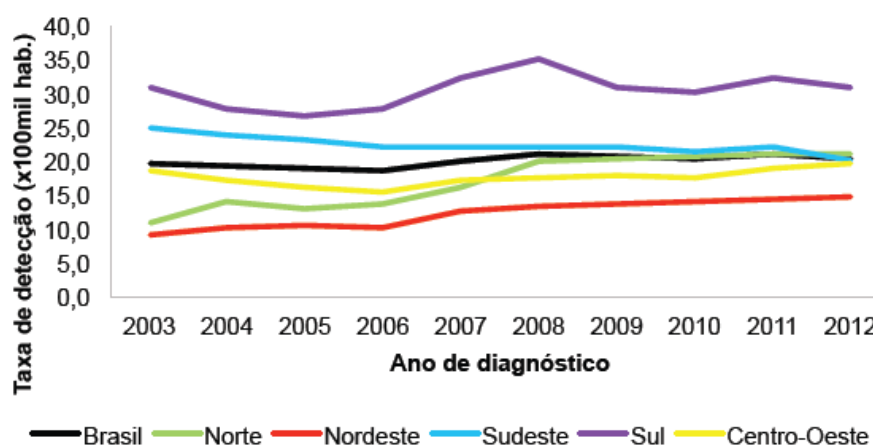
De acordo com o *UNAIDS 2013 Global Report*, havia, em 2012, no mundo, 35,3 milhões de pessoas infectadas pelo HIV. O relatório apresentou uma taxa anual de 2,3 milhões de novas infecções, mostrando uma diminuição de 33% no número dessas infecções em comparação com 2001 quando se registrou 3,4 milhões de novas infecções. O número de mortes por AIDS também está em declínio, com 1,6 milhões de mortes por AIDS em 2012, contra 2,3 milhões em 2005. Dos 35,3 milhões de pessoas vivendo com HIV, 1,5 milhões são indivíduos da América Latina(UNAIDS, 2013).

Segundo o Boletim Epidemiológico publicado em 2013, do Ministério da Saúde, estima-se que aproximadamente 718 mil indivíduos vivam com o HIV/AIDS no Brasil, o que representa uma prevalência de 0,4% na população em geral, dos quais em torno de 80% (574 mil) não tem conhecimento do seu status sorológico (DDAHV, 2013).

De acordo com a Política Brasileira de Enfrentamento da AIDS de 2012, publicação oficial do Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais que apresenta os principais resultados e progressos no período de 2002 a 2012; a resposta programática ao HIV/AIDS e outras DSTs necessita focar em subgrupos populacionais em situação de maior vulnerabilidade. O número de mulheres adultas infectadas pelo HIV no Brasil fica entre 160.000 a 190.000(DDAHV, 2012a).

No ano de 2012, foram notificados 39.185 casos de AIDS no Brasil. Este número vem se mantendo estável nos últimos 5 anos, demonstrando a tendência de

estabilização da taxa de incidência de AIDS; embora as altas taxas de incidência na região Sul e a presença de diferenças entre as regiões do país. A taxa de detecção nacional foi de 20,2 casos para cada 100.000 habitantes, a Figura 1 apresenta a variação da taxa de detecção desde 2003 nas diferentes regiões do país. (DDAHV, 2013).



**Figura 1:** Taxa de detecção de AIDS por região de residência e ano de diagnóstico no Brasil de 2003 a 2012.

Fonte: Boletim Epidemiológico HIV/AIDS, 2013.

A epidemia vem se disseminando dos grandes centros (onde encontramos as mais altas proporções de pessoas com AIDS em situações vulneráveis) para municípios de médio e pequeno porte. Ao mesmo tempo, o crescimento geral das taxas de incidência em mulheres está diminuindo. As regiões Sul e Sudeste permanecem apresentando os níveis mais altos de incidência de AIDS em mulheres. (DDAHV, 2012a). Com relação à infecção pelo HIV em gestantes, em 2010, no último estudo sentinela em parturientes, observou-se uma prevalência de HIV de 0,38%, que corresponde a um total estimado de 10.303 gestantes HIV positivas para esse ano (DDAHV, 2012b, 2013).

Aplicando essa prevalência ao número estimado de gestantes em 2012, obtém-se um total de 12.177 gestantes HIV positivas. Comparando o dado estimado com o número de casos notificados em 2012 (7.097 gestantes HIV positivo), estima-se que a vigilância de HIV em gestantes alcançou 58,3% dos casos esperados (DDAHV, 2013). Ainda, segundo os últimos estudos sentinela em parturientes no Brasil, a prevalência de infecção pelo HIV em parturientes com menos de 24 anos apresentou aumento de 0,26% em 2006 para 0,31% em 2010 (DDAHV, 2012b). A taxa de detecção de casos de HIV em gestantes no Brasil em 2012 correspondeu a 2,4 casos por 1.000 nascidos vivos. A única região com uma taxa de detecção superior à média nacional foi a Região Sul, com 5,8 casos por 1.000 nascidos vivos. No período de 2003 a 2012, observa-se no Brasil um aumento de 26,3% na taxa de detecção de HIV em gestantes (DDAHV, 2013).

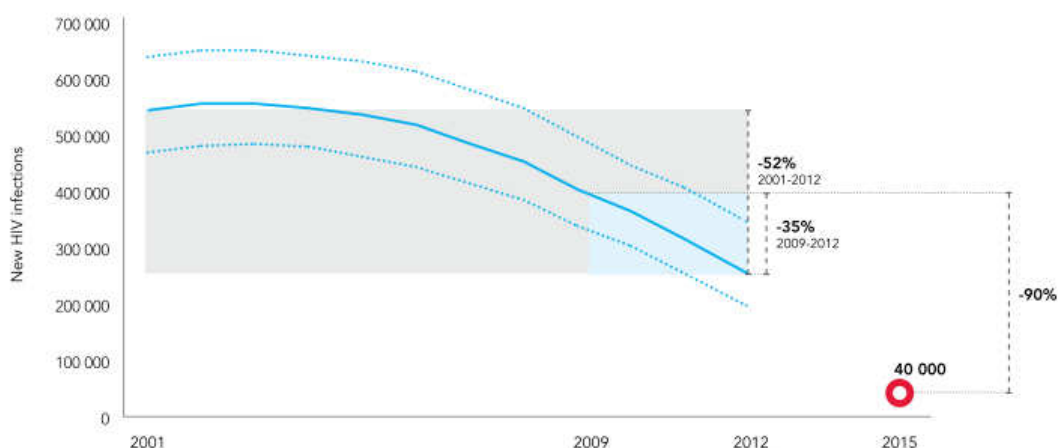
O comprometimento do Governo Brasileiro e do Ministério da Saúde no combate à epidemia do HIV e AIDS no país é histórico. Como indicado no *UNAIDS 2013 Global Report*, das 14.810 gestantes, na América Latina, que receberam antirretrovirais para prevenção da transmissão de mãe para filho em 2012, 7.641 eram brasileiras (UNAIDS, 2013).

### **3.2 Infecção pelo HIV em Crianças**

De acordo com o *UNAIDS 2012 Global Report* o registro de novas infecções pelo HIV em crianças decaiu em 43% de 2003 a 2011. De fato, a porcentagem de novas infecções pelo HIV em crianças decaiu em 24% nos anos de 2011 e 2012, esta queda é igual à porcentagem de declínio dentre os anos de 2003 a 2011. O progresso realizado dentre os anos de 2009 a 2011 em prevenção da transmissão de mãe para

filho, foi responsável por dois terços da queda em infecções pelo HIV neste período. A profilaxia com antirretrovirais durante a gestação reduziu o risco de transmissão do HIV para menos de 5%. A América Latina apresentou a mesma porcentagem de queda de novas infecções pelo HIV em crianças, 24% (UNAIDS, 2012).

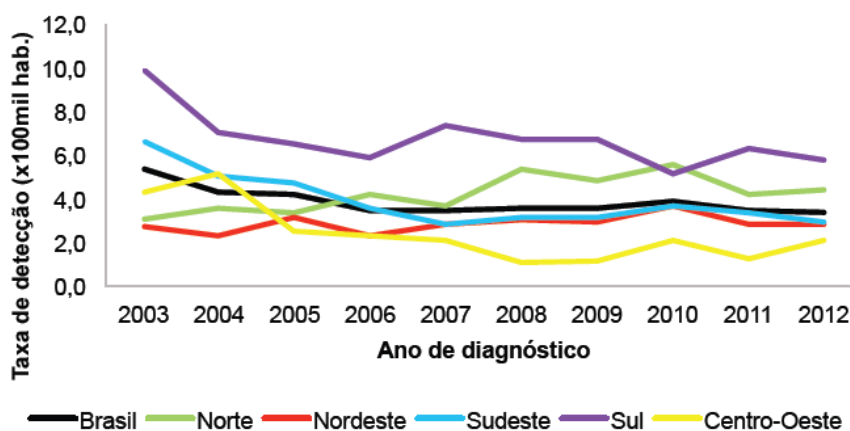
Em dezembro de 2012, mais de 900.000 gestantes vivendo com HIV no mundo, receberam profilaxia ou tratamento com antirretrovirais. Os programas de cobertura de antirretrovirais para prevenção da transmissão vertical (excluindo o regime menos efetivo de dose unitária de nevirapina) aumentaram de 57% (51-64%) em 2011 para 63% (57-70%) em 2012 (UNAIDS, 2013). O *UNAIDS 2013 Global Report* também apresenta como 21 a porcentagem de bebês nascidos de mulheres infectadas pelo HIV realizando teste virológico para HIV nos dois primeiros meses de vida no Brasil (UNAIDS, 2013). Como resultado das ações de prevenção, mundialmente, o número anual de novas infecções pelo HIV em crianças em 2012 era 260.000 (230.000 – 320.000) em países de baixa e média renda, 35% a menos do que em 2009. De 2001 para 2012, ocorreu um declínio de 52% em novas infecções pelo HIV em crianças. A expansão ao acesso aos serviços de prevenção à transmissão vertical preveniu mais de 670.000 crianças de adquirirem HIV entre os anos de 2009 a 2012 (UNAIDS, 2013). A figura abaixo apresenta o número de novas infecções pelo HIV entre crianças de países de baixa e média renda, no período de 2001 a 2012, além da meta de reduzir em pelo menos 90% o número de novas infecções entre crianças até 2015 (utilizando o ano de 2009 como base). (UNAIDS, 2013)



**Figura 2:** Número de novas infecções pelo HIV entre crianças em países de baixa e média renda, 2001 – 2012 e a meta para 2015.

Fonte: *UNAIDS 2013 Global Report*

No Brasil, a taxa de detecção de casos de AIDS em menores de cinco anos, indicador utilizado pelo Ministério da Saúde para monitorar a transmissão vertical do HIV, foi de 3,4/100.000 habitantes em 2012, o que corresponde a uma redução de 35,8% em relação a 2003. Na faixa de 5 a 9 anos, a taxa foi de 0,7/100.000 (71% de redução em relação a 2003) (DDAHV, 2013). A Figura 3 apresenta a incidência de AIDS em menores de 5 anos de idade no Brasil de 2003 a 2012.



**Figura 3:** Taxa de detecção de AIDS em menores de 5 anos por região de residência e ano de diagnóstico.

Fonte: Boletim Epidemiológico HIV/AIDS, 2013

No mundo, infelizmente, as crianças que vivem com HIV continuam a experimentar falhas persistentes de tratamento. Em 2012, 647.000 crianças com menos de 15 anos de idade receberam tratamento com antirretrovirais. A cobertura de tratamento do HIV para as crianças (34%, 31-39%) permaneceu em metade em comparação à cobertura para tratamento em adultos (65%, 61-70%) em 2012. Embora o número de crianças recebendo terapia antirretroviral em 2012 tenha aumentado em 14% em comparação ao ano de 2011, o ritmo de ampliação foi substancialmente mais lento do que para adultos (um aumento de 21%) (UNAIDS, 2013).

### **3.3 Terapia Antirretroviral em Crianças**

Os principais objetivos da terapia antirretroviral em crianças, comuns a diferentes diretrizes em diversos países são:

- Reduzir a morbimortalidade e melhorar a qualidade de vida de crianças infectadas;
- Assegurar crescimento e desenvolvimento adequados;
- Preservar, melhorar ou reconstituir o funcionamento do sistema imunológico, reduzindo a ocorrência de infecções oportunistas;
- Proporcionar supressão máxima e prolongada da replicação do HIV, reduzindo o risco de resistência aos antirretrovirais, aliada à menor toxicidade.

Além destes objetivos, as recomendações brasileiras incluem assegurar o menor impacto possível sobre o bem-estar e a qualidade de vida do paciente, com a escolha de esquemas potentes, com atividade farmacológica conhecida em crianças e

adolescentes, boa palatabilidade, boa tolerância e a menor toxicidade possível. É também recomendado o monitoramento da terapia, através de avaliações laboratoriais (como carga viral, contagem de linfócitos T CD4+, hemograma, exames de função hepática e renal, exames bioquímicos, raio-X de tórax e análise de sedimento urinário) para identificação de intolerância, toxicidade/eventos adversos e falha terapêutica não contornáveis (MS, 2009).

As recomendações de terapia antirretroviral em crianças variam de acordo com o país, porém o tratamento antirretroviral vigente para crianças pode incluir as cinco classes de medicamentos antirretrovirais: ITRN - Inibidor da Transcriptase Reversa Análogo de Nucleosídeo/Nucleotídeo; ITRNN – Inibidor da Transcriptase Reversa Não-Análogo de Nucleosídeo; IP - Inibidor da Protease; IF - Inibidor de Fusão e II - Inibidor da Integrase (Rakhmanina & Phelps, 2012; Viganò, 2011; Reis, 2011).

A combinação de TARV, também definida como HAART (*Highly Active Antiretroviral Treatment*), que consiste em dois Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos (ITRN) e um Inibidor da Protease (IP) ou um Inibidor da Transcriptase Reversa Não-Análogo de Nucleosídeo (ITRNN), tem trazido um profundo efeito benéfico na sobrevida e na qualidade de vida de crianças infectadas verticalmente pelo HIV (Rakhmanina & Phelps, 2012; Kim, 2009). Regimes baseados em IP ou ITRNN combinado com uma seleção de dois ITRN são regimes considerados de primeira linha e seguem as recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS), *US-National Institute of Health* (NIH) e PENTA (Viganò, 2011). Dentre os 37 antirretrovirais aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA), o Departamento Americano equivalente à ANVISA, para tratamento de adultos e

adolescentes infectados pelo HIV nos Estados Unidos, 28 são aprovados para uso na população pediátrica (FDA, 2014).

No Brasil, a política de acesso universal à terapia antirretroviral abrange o desenvolvimento e a disponibilização gratuita de novos medicamentos para todas as idades, a partir da melhor evidência científica publicada. Em 2009, o Ministério da Saúde Brasileiro publicou as já citadas Recomendações para terapia antirretroviral em crianças e adolescentes infectados pelo HIV incluindo as diretrizes para terapia antirretroviral inicial e como lidar com a resposta e falha terapêutica, considerando os medicamentos disponíveis (MS, 2009). Esta publicação foi suplementada duas vezes, primeiramente o suplemento I que incluiu as informações sobre Imunizações, Diagnóstico da Infecção pelo HIV, Gerenciamento de toxicidade à terapia antirretroviral e Diretrizes para o tratamento de tuberculose (MS, 2010), e o suplemento II que apresenta: Objetivos da terapia antirretroviral, Recomendações de manejo da falha terapêutica e Critérios de indicação de Inibidores da Protease para crianças e adolescentes (MS, 2011). Juntas, estas publicações compõem as diretrizes de tratamento para infecção pelo HIV em crianças e adolescentes no Brasil e, de acordo com elas, as diretrizes para HAART no Brasil, seguem o mesmo padrão de combinação terapêutica que os Estados Unidos. O regime preferencial é 2 ITRN + 1 ITRNN (NVP para crianças < 3 anos; EFZ para crianças  $\geq$  3 anos) e o regime alternativo trata-se de 2 ITRN + 1PI/r (o IP preferencial é LPV/r e o alternativo é FPV/r para crianças  $\geq$  6 anos)(MS, 2009). Como descrito por Rakhmanina & Phelps (2012) mesmo com a disponibilização de formulações pediátricas de medicamentos ARV, sérios desafios para uma TARV pediátrica eficiente permanecem entre países e continentes. Dentre os desafios observam-se: barreiras específicas para a aderência



como palatabilidade e altos volumes de doses das formulações líquidas; a capacidade da criança em engolir a pílula; a dispensabilidade das preparações de antirretrovirais pediátricos; a biodisponibilidade dos componentes; habilidades de modificação do comportamento dos pais e da criança; a “abertura” do status sorológico para HIV; manuseio e entrega de TARV pediátrico para os cuidadores, e, com maior importância, a experiência do cuidador e a sua capacidade de administrar ARV para pacientes mais jovens e de servir como base para o encorajamento e apoio a crianças mais velhas (Rakhmanina& Phelps, 2012). Neste contexto, em pacientes em uso de formulações sólidas, uma menor quantidade de comprimidos existente no regime com ITRNN em relação à quantidade de medicamentos em regimes com IPs, provavelmente resulta em maior nível de adesão em pacientes mais jovens. Em crianças com 3 anos ou mais de idade e capazes de engolir os comprimidos, efavirenz é preferível como terapia de primeira linha devido a sua posologia de uma dose diária, ausência de interações com alimentos e baixa incidência de efeitos adversos em comparação com a nevirapina. Esta, por sua vez, está disponível em formulação líquida e apresenta informação sobre dosagem para crianças com 3 anos de idade ou menos; a nevirapina é o medicamento preferível em crianças que exigem o uso de formulação líquida a menos que a criança tenha sido exposta à nevirapina durante a profilaxia de transmissão vertical. Inibidores da protease apresentam uma alta barreira genética para resistência devido a mutações virais em comparação aos ITRNNs e sua eficácia em reduzir a carga viral e permitir uma ótima recuperação imunológica é amplamente demonstrada. Estes medicamentos estão disponíveis em formulações líquidas e aparentam ser seguros e efetivos em relação à supressão virológica e ao aumento da contagem de linfócitos T CD4+. Em crianças

com 6 anos ou mais, atazanavir, fosamprenavir e darunavir combinados a uma baixa dose de ritonavir, são considerados como IPs alternativos. Estes medicamentos são considerados de segunda escolha devido à experiência limitada de seu uso, complicações metabólicas e/ou ausência de formulação pediátrica (Rakhmanina & Phelps, 2012).

Os benefícios da TARV incluindo inibidores da protease são inquestionáveis reduzindo a morbidade e mortalidade dentre as crianças infectadas pelo HIV. Com a epidemia da infecção por HIV em crianças e adolescentes em curso no mundo, a disponibilidade de TARV eficiente é fundamental para salvar e melhorar a vida de milhões de crianças em todo o mundo. Pelas estimativas da OMS, sem a intervenção terapêutica, aproximadamente um terço das crianças infectadas pelo HIV morrem em um ano de idade e aproximadamente metade morreriam em até dois anos de idade (OMS, 2010). Além da necessidade de disponibilizar os medicamentos antirretrovirais para terapia em crianças, outro aspecto importante tem sido amplamente discutido: Quando iniciar a TARV em crianças? Estudos confirmaram que mesmo que o nível de replicação viral em crianças infectadas verticalmente é bem alto, o início precoce de HAART pode resultar em supressão viral sustentada e normalização das respostas imunológicas contra antígenos não-HIV. Estudos têm demonstrado que a progressão da doença ocorre muito rapidamente nos primeiros meses de vida, conduzindo frequentemente à morte, de modo que o início da HAART é a abordagem possível para evitar a progressão rápida da doença. Além disso, mais de 80% das crianças infectadas tornam-se elegíveis para iniciar terapia antirretroviral antes dos 6 meses de idade (Penazzato, 2010). Estudos observacionais nos Estados Unidos e na Europa sugerem que o início da HAART antes de seis

meses de idade, reduz a ocorrência de doença grave de início precoce (Westat/NICHD). Pesquisas demonstraram que o início imediato da HAART reduz significativamente a mortalidade e morbidade em crianças infectadas pelo HIV, sendo que a OMS reviu as suas orientações para recomendar iniciação da HAART em todas as crianças infectadas pelo HIV menores de dois anos (Heidari, 2012). De fato, o tratamento precoce em crianças modifica o curso natural da infecção por controlar a replicação do HIV e reduzir a carga viral para níveis abaixo do limiar necessário para o surgimento da resposta imune para o HIV, mas não impede a criação de um reservatório de células infectadas latentes de forma que impede a erradicação do vírus (Penazzato, 2010).

Critérios para o início da HAART em crianças infectadas pelo HIV têm variado ao longo do tempo e entre países e centros (Penazzato, 2010) e, apesar de um importante sucesso ter sido alcançado no desenvolvimento das orientações de dosagem pediátrica ARV, os dados sobre as mudanças no desenvolvimento da farmacocinética e farmacodinâmica dos antirretrovirais ainda são limitadas em crianças (Rakhmanina & Phelps, 2012). Além disso, o crescimento e desenvolvimento do paciente pediátrico podem afetar significativamente a absorção e distribuição do medicamento e pela função renal imatura, desenvolvimento da atividade de enzimas hepáticas (particularmente da Citocromo P450 envolvidas no metabolismo de vários ARVs) e as diferenças na absorção levam à variações na disponibilidade sistêmica de ARVs entre as crianças (Penazzato, 2010). Penazzato et al (2010), discute os potenciais problemas com o tratamento de crianças assintomáticas. As taxas de falha virológica reportadas parecem ser maiores com o início de terapia precoce ao invés de uma terapia posterior. Em estudos sobre o efeito

da terapia precoce, a proporção de crianças com níveis virais abaixo da quantificação após 12-24 meses de terapia é menor do que o observado em crianças mais velhas e adultos, variando de 18% a 62%. Um dos maiores problemas é o fato já bem estabelecido de que a supressão viral incompleta pode levar ao desenvolvimento de resistência terapêutica e comprometer as opções de tratamento futuras (Penazzato, 2010). A supressão virológica, no entanto, pode levar mais tempo em crianças pequenas, dada a sua maior carga viral no momento do início da terapia do que em crianças mais velhas ou adultos. Outro ponto a ser discutido é a má previsão do marcador de laboratório da progressão da doença e a sua utilização como critério para o início da HAART (Penazzato, 2010). Viganò et al (2011) enfatiza o uso da contagem de células T CD4+ mais do que a percentagem de células T CD4+ para a decisão do momento do início da terapia em crianças infectadas pelo HIV-1 (Viganò, 2011). Sendo assim, uma vez que as crianças entram em tratamento, a monitorização clínica e laboratorial deve ser realizada a cada 3-4 meses da mesma forma que antes de iniciar o tratamento, com os acréscimos importantes de monitoramento da adesão, toxicidade de drogas e interações (Penazzato, 2010). No Brasil, as crianças são acompanhadas mensalmente até completar 6 meses de idade, seguido de visitas a cada 2 meses (DDAH, 2009).

Apesar dos desafios da terapia antiretroviral em crianças e a discussão em torno do momento ideal para seu início, seus benefícios são inquestionáveis e vêm atingindo os objetivos principais já descritos. Porém, os benefícios em longo prazo estão associados a alterações metabólicas como dislipidemias, resistência à insulina, intolerância à glicose, etc (Barlow-Mosha, 2013; Aldrovandí, 2009).

### **3.4 Dislipidemia, TARV e Infecção pelo HIV em crianças.**

A dislipidemia caracteriza-se por níveis elevados de colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e triglicerídeos no plasma (TG), e níveis mais baixos de colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL) (Strehlau, 2012). A literatura apresenta termos diferentes para descrever anormalidades lipídicas, como dislipidemia, hiperlipidemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, dentre outros, todos eles relacionados a valores anormais sobre o metabolismo lipídico. O perfil lipídico para a faixa etária entre 2 e 19 anos segundo a V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, apresenta como valores referenciais elevados:  $CT \geq 170 \text{mg/dL}$ ,  $LDL-C \geq 130 \text{mg/dL}$ ,  $TG \geq 130 \text{mg/dL}$  e HDL-C valores desejados  $\geq 45 \text{mg/dL}$  (SBC, 2013).

Com estabelecimento do uso de HAART, a morbidade relacionada a infecções oportunistas diminuiu muito (Hazra, 2010), como resultado, enfrentamos um cenário diferente, onde o foco é a morbidade relacionada com o tratamento, tais como o desenvolvimento de anormalidades metabólicas (Hazra, 2010; Bitnun, 2003; McComsey, 2004; Beregszaszi, 2005; Contri, 2011).

Estudos têm relatado a associação entre a infecção pelo HIV e ARV com a ocorrência de anormalidades lipídicas. No entanto, continua sendo difícil identificar qual a proporção destas anormalidades é causada pela infecção pelo HIV ou é um resultado da toxicidade do tratamento já que a terapia antirretroviral por si só também tem associação com alterações metabólicas incluindo dislipidemias (Tassipoulos, 2008; Dubé, 2012; Strehlau, 2012;). A infecção pelo HIV está associada a um perfil lipídico pró-aterogênico, mas outros aspectos podem contribuir como raça, sexo, idade, bem como o desenvolvimento pubertal (Aldrovandi, 2009;

Dubé, 2012; Palchetti, 2013). Por conseguinte, a dislipidemia em pacientes infectados pelo HIV pode resultar de uma combinação de causas, incluindo a infecção viral, a terapia antirretroviral e os fatores genéticos (Battistini, 2010).

Devido à precocidade e grande exposição ao medicamento, especialmente em infecções adquiridas por transmissão vertical, as crianças apresentam maiores riscos de desenvolver efeitos adversos da terapia antirretroviral (Palchetti, 2013) havendo uma preocupação especial, uma vez que estão expostos a TARV durante os períodos críticos de seu desenvolvimento e provavelmente irão enfrentar a perspectiva de tratamento ao longo da vida (Aldrovandi, 2009; Brewinski, 2012; Heidari, 2012; Strehlau, 2012). Tassiopoulos et al (2008), identificaram que crianças menores de 6 anos de idade tiveram taxas mais elevadas de hipercolesterolemia (4,2 casos por 100 pessoas-ano) do que as crianças com 13 anos ou mais de idade (2,3 casos por 100 pessoas-ano) sendo as taxas também superiores em crianças em uso de IPs (Tassiopoulos, 2008). Regimes contendo inibidores de protease (IPs), em particular os regimes incluindo ritonavir, têm sido fortemente implicados como uma causa de dislipidemias (Rhoads, 2011) e o aumento da prevalência de hiperlipidemias em pacientes infectados pelo HIV, e em uso de IPs, trás à tona questão do aumento do risco de doenças cardiovasculares (Cheseaux, 2002). Outras classes de medicamentos antirretrovirais têm também sido associadas como aos inibidores da transcriptase reversa análogos a nucleosídeos (ITRN) (Contri, 2011; Strehlau, 2012; Palchetti, 2013; Battistini, 2010; Farley, 2005; Reis, 2011). Secundário para a própria infecção pelo HIV, o mecanismo responsável pela associação entre os IPs e os níveis anormais de lipídios permanece incerto, algumas hipóteses incluem o seu potencial para aumentar a síntese de lipídios por enzimas do fígado ou por inibição de

proteínas envolvidas no metabolismo lipídico e na diferenciação dos adipócitos (Tassiopoulos, 2008).

As prevalências de dislipidemias identificadas nos diversos estudos publicados apresentam grande variação. De 20-50% das crianças infectadas pelo HIV tratadas com terapia antirretroviral altamente ativa que inclui inibidores de protease, têm demonstrado desenvolver anormalidades lipídicas, mais comumente o aumento dos níveis de colesterol total e LDL (McCrintle, 2007). Dislipidemias foram descritas em 50-70% das crianças que receberam a ART (Strehlau, 2012).

Um recente estudo em crianças tailandesas identificou prevalências de 75% de hipertrigliceridemia, 46,4% de hipercolesterolemia, 39,3% de LDL elevado e 78,6% de HDL diminuído, estas crianças estavam em regime HAART baseado em LPV/r (Dejkhamron, 2013). Beregszaszi et al (2005), identificou o uso de IPs como preditor independente para o desenvolvimento de distúrbios metabólicos (Beregszaszi, 2005).

Um estudo brasileiro publicado recentemente, apresentou uma prevalência de 70% de dislipidemia na população estudada (Palchetti, 2013) similar ao estudo de Battistini et al (2010), o qual encontrou uma prevalência de 60% de dislipidemia em crianças e adolescentes com AIDS (Battistini, 2010). No estudo de Santos et al (2006), no qual 62,5% dos pacientes desenvolveram hipercolesterolemia sendo que a maioria apresentava valores normais no momento do recrutamento no estudo (Santos, 2006). Devido ao fato de que o sobrepeso e as anormalidades lipídicas associadas em crianças tem demonstrado persistir até a vida adulta, o risco cardiovascular aumentado pode ocasionar uma epidemia prematura de doenças cardiovasculares (McCrintle, 2007). Por isso, em se tratando de crianças infectadas pelo HIV, o risco futuro de consequências cardiovasculares prejudiciais pode ser

aumentado (Brewinski, 2010; Sztam, 2011; Heidari, 2012). Um estudo de coorte retrospectiva em adultos mostrou que o aumento no risco de infarto do miocárdio e acidente cerebrovascular, pode estar relacionado com o tempo de duração da terapia, sendo que o risco dobra em 5 anos (Bozzette, 2008). Assim, o risco de doença cardiovascular pode também ser aumentado em crianças com dislipidemias (Sztam, 2011). Mesmo acreditando-se que a aterosclerose durante a infância tenha uma origem multifatorial (Lamb, 2011), as preocupações são intensificadas pelo acúmulo de evidência de importantes parâmetros na infância, ao longo prazo de aterosclerose em adultos e do aumento do reconhecimento do papel da exposição precoce em moldar o desenvolvimento desses mecanismos metabólicos. Mas estudos em crianças e bebês são limitados e geralmente não há segmento prospectivo de crianças ou comparações de regimes diferentes (Strehlau, 2012). Além disso, não existem valores de referência universalmente padronizados para concentrações de lipídios na infância que possam prever doença cardiovascular na fase adulta (Lamb, 2011). Há a necessidade de estudos de incidência das dislipidemias para avaliação de causalidade.

O tratamento recomendado para dislipidemias inclui inicialmente mudanças na dieta e aumento de atividade física (Daniels, 2008; Jacobson, 2011). Há dificuldade em se estabelecer uma diretriz baseada em idades específicas para se implementar um tratamento farmacológico em crianças com dislipidemia (Daniels, 2008) contudo, adultos infectados pelo HIV tem se beneficiado do uso de medicamentos da classe das estatinas (Jacobson, 2011).



### **3.5 Anormalidades de glicose, TARV e Infecção pelo HIV em crianças.**

Como já descrito, os benefícios em longo prazo da TARV estão associados a complicações metabólicas, sendo que alterações na homeostase da glicose têm sido reportadas em pacientes infectados pelo HIV (Brown, 2005; Barlow-Mosha, 2013). Alterações metabólicas são de grande preocupação especialmente em crianças infectadas pelo HIV já que a TARV é introduzida no seu início de vida (Aldrovandi, 2009; Reis, 2011).

Estas alterações são provavelmente resultado de complexas interações entre a infecção pelo HIV, medicamentos antirretrovirais específicos, raça, sexo e idade, bem como a genética e fatores de estilo de vida (Aldrovandi, 2009). Uma das maiores dificuldades em estudar a síndrome metabólica em crianças é a falta de definições padronizadas para a síndrome, a qual envolve, por exemplo, resistência à insulina e anormalidades lipídicas; as quais as crianças podem desenvolver fisiologicamente durante a puberdade de acordo com a idade e o sexo (Nelson, 2010). Uma variedade de desordens no metabolismo da glicose tem sido associada com a infecção pelo HIV e TARV, incluindo intolerância à glicose, glicemia em jejum alterada e diabetes tipo 2. Segundo a *American Heart Association* de 20 a 50% das crianças em uso de inibidores da protease desenvolvem anormalidades metabólicas. (McCrinkle, 2007). Glicemia de jejum alterada, bem como tolerância à glicose diminuída representam estados intermediários de regulação da glicose anormal que existe entre a homeostase da glicose normal e diabetes (Nathan 2007).

Ao contrário do observado em adultos, os distúrbios da homeostase de glicose são relativamente incomuns em crianças infectadas pelo HIV (Bitnun, 2005; Rosso, 2007; Barlow-Mosha, 2013), porém, alterações nos níveis de insulina têm sido

reportadas e a exposição prolongada a altos níveis de insulina podem aumentar o risco de diabetes tipo 2 (Barlow-Mosha, 2013).

A insulina desempenha um papel vital no metabolismo da glicose do corpo inteiro e da homeostase energética. A utilização adequada e eliminação da glicose depende principalmente de dois fatores: a liberação normal de insulina do pâncreas e da sensibilidade do tecido normal à insulina, o que aumenta significativamente a absorção de glicose e suprime a produção hepática de glicose (Nelson, 2010). De acordo com o *National Diabetes Information Clearinghouse* (NDIC) dos Estados Unidos, a resistência à insulina é a condição na qual o corpo produz insulina, porém não a usa efetivamente. Quando uma pessoa tem resistência à insulina, os níveis de glicose aumentam no sangue ao invés de ser absorvida pelas células, levando à diabetes tipo 2 ou pré-diabetes.

A resistência à insulina se desenvolve devido a uma complexa interação entre predisposição genética e fatores exógenos, como a dieta e o estilo de vida, o resultado final é uma diminuição da ação da insulina. Metabolismo lipídico desordenado e adipocitocinas também podem contribuir para a patogênese da resistência à insulina. As tentativas de estimar a prevalência de resistência à insulina na população pediátrica, infectadas ou não pelo HIV, foram recentemente feitas usando HOMA-IR (cálculo usando valores de glicose e insulina em jejum) (Nelson, 2010), porém diferentes métodos de medida são utilizados dificultando a comparação entre os diversos estudos.

A patogênese da resistência à insulina em pacientes infectados pelo HIV, incluindo crianças, é desconhecida, mas é considerada como multifatorial. A relação com a HAART é suportada pela reversão da resistência à insulina em estudos de troca de

medicamentos e pela indução da mesma após a administração em curto prazo de medicamentos componentes da HAART em voluntários normais. Resistência à insulina também tem sido atribuída à própria infecção pelo HIV, mas, mais provavelmente à utilização de HAART especialmente inibidores da protease e ITRN (Rosso, 2007; Geffner, 2011; Gutierrez, 2012; Palios, 2012).

Seguindo o perfil lipídico, os regimes antirretrovirais contendo inibidores da protease são os medicamentos associados às anormalidades de glicose especialmente resistência à insulina na qual o Lopinavir tem sido reportado como indutor. Tem sido demonstrado que HAART pode causar resistência à insulina por interferir na sinalização da insulina a nível celular ou por um efeito indireto no metabolismo lipídico (Dejhamron, 2013). A inibição direta do isoforma 4 de insulina transportadora de glicose (GLUT-4) é um mecanismo primário pelo qual IPs e NRTIs agudamente alteram a disponibilidade periférica de glicose (Viganò, 2009; Geffner, 2011).

A resistência à insulina aumenta o risco de desenvolver pré-diabetes e diabetes tipo 2. Embora a resistência à insulina em si não cause diabetes tipo 2, muitas vezes prepara o terreno para a doença, colocando uma alta demanda sobre as células beta produtoras de insulina. Na pré-diabetes, as células beta já não podem produzir insulina suficiente para superar a resistência à insulina, fazendo com que os níveis de glicose no sangue subam acima do nível normal. Uma vez que uma pessoa tenha pré-diabetes, perda contínua da função das células beta normalmente leva ao desenvolvimento de diabetes tipo 2. (NDIC)

A anormalidade da homeostase da glicose em crianças infectadas pelo HIV vem sendo estudada, sobretudo por estudos transversais. De maneira geral, a maioria das

publicações pediátricas tem falhado em demonstrar uma associação entre o uso de IP e distúrbios da homeostase da glicose (Viganò, 2009). No estudo Beregszaszi (2005), nenhuma das 130 crianças infectadas pelo HIV teve diabetes sendo que apenas uma das crianças apresentou intolerância à glicose. Já o estudo de Bitnun (2005), apresentou resultados que sugerem que o uso de inibidores da protease em crianças, leva ao desenvolvimento de resistência à insulina e intolerância à glicose e ao risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2. Rosso (2007), também encontrou correlação entre resistência à insulina e a duração do tratamento antirretroviral corroborando com o estudo de Beregszaszi (2005), que demonstrou que o número de crianças com resistência à insulina dobrou após dois anos de seguimento, confirmando que a redução na sensibilidade à insulina se desenvolve progressivamente com o aumento da idade e puberdade. A puberdade, por sua vez, é considerada um período crítico para o desenvolvimento de resistência à insulina, já que a transição para um estado com menor sensibilidade à insulina ocorre mediada pelo menos em parte pelas mudanças hormonais (Rosso, 2007).

Os diversos estudos publicados apresentam prevalências de resistência à insulina com grandes variações dependendo do método de medição utilizado. O estudo de Dejkhamron (2013) apresentou uma prevalência de 42,8% comparável ao reportado pelos estudos de Reis et al (2011) e Rosso (2007) que apresentaram uma variação de 15,2 a 60,4%. Porém, ao usar o método HOMA-IR, a prevalência diminuiu para 17,9% (Dejkhamron, 2013). Reis et al (2011), identificou uma prevalência de 16,7% em crianças em HAART por uma média de 8,6 anos sendo que 56% destas estavam em regime incluindo inibidores da protease. Este resultado se assemelha aos 15,2% reportados por Geffner et al (2011), também em crianças em tratamento com

inibidores da protease. Um estudo observacional francês encontrou resistência à insulina em 13,2% das crianças em HAART (Beregszaszi, 2005). No caso de diabetes, um estudo em adultos infectados pelo HIV apresentou uma prevalência de diabetes nos pacientes em HAART de 14% e incidência de 4,7 por 100 pessoas-ano (Brown, 2005).

Com o tempo, os níveis elevados de glicose no sangue podem danificar nervos e vasos sanguíneos, levando a potenciais complicações como doenças cardíacas, derrame, cegueira, insuficiência renal e amputações de membros inferiores (NDIC). Neste contexto, a identificação precoce e o manejo das alterações no metabolismo da glicose são aspectos importantes para a manutenção em longo prazo da saúde de crianças infectadas pelo HIV.

## 4. OBJETIVOS

### 1. Objetivos

#### Objetivo Geral

Determinar a incidência de anormalidades lipídicas e de glicose em crianças infectadas pelo HIV e em uso de HAART e sua relação com a terapia antirretroviral incluindo inibidores da protease.

#### Objetivos Específicos

- Determinar a prevalência de dislipidemia (hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, HDL e LDL anormais) e alterações da glicose (resistência à insulina, glicemia de jejum alterada, diabetes), examinando os resultados de amostras de jejum no '*baseline*'.
- Determinar a incidência da dislipidemia e anormalidades da glicose (examinando os resultados de amostras de jejum) com base em todas as medidas disponíveis entre os indivíduos não-prevalentes.
- Examinar a associação do regime antirretroviral, especialmente aqueles que contêm IPs, com a incidência de dislipidemia e anormalidades de glicose.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aldrovandi GM, Lindsey JC, Jacobson DL, Zadzilka A, Sheeran E, Moye J, et al. Morphologic and metabolic abnormalities in vertically HIV-infected children and youth. *AIDS*. 2009;23(6):661–72.

Barlow-Mosha L, Eckard AR, McComsey GA, Musoke PM. Metabolic complications and treatment of perinatally HIV-Infected children and adolescents. *JIAS*. 2013;16:18600.

Battistini TRB, Saccardo Sarni RO, Suano de Souza FI, Pitta TS, Fernandes AP, Hix S, et al. Lipodystrophy, lipid profile changes, and low serum retinol and carotenoid levels in children and adolescents with acquired immunodeficiency syndrome. *Nutrition*. 2010;26(6):612–6.

Beregszaszi M, Dollfus C, Levine M, Faye A, Deghmoun S, et al. Longitudinal Evaluation and Risk Factors of Lipodystrophy and Associated Metabolic Changes in HIV-Infected Children. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005 Oct 1;40(2):161–8.

Bitnun A, Sochett E, Babyn P, Holowka S, Stephens D, Read S, et al. Serum lipids, glucose homeostasis and abdominal adipose tissue distribution in protease inhibitor-treated and naïve HIV-infected children. *AIDS*. 2003 Jun 13;17(9):1319–27.

Bitnun A, Sochett E, Dick PT, To T, Jefferies C, Babyn P, et al. Insulin sensitivity and beta-cell function in protease inhibitor-treated and –naïve human immunodeficiency virus-infected children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Jan;90(1):168–74.

Bozzette SA, Ake CF, Tam HK, Phippard A, Cohen D, Scharfstein DO, et al. Long-term survival and serious cardiovascular events in HIV-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008;47:338-41.

Brewinski M, Megazzini K, Hance LF, Cruz MC, Pavia-Ruz N, Della Negra M, et al. Dyslipidemia in a cohort of HIV-infected Latin American children receiving highly active antiretroviral therapy. *J Tropic Ped*. 2010 Oct 1;57(5):324–32.

Brown TT, Cole SR, Li X, Kingsley LA, Palella FJ, Riddler SA, et al. Antiretroviral therapy and the prevalence and incidence of diabetes mellitus in the multicenter AIDS cohort study. *Arch Intern Med*. 2005 May 23;165(10):1179–84.

Carter RJ, Wiener J, Abrams EJ, Farley J, Nesheim S, Palumbo YP, et al. Dyslipidemia Among Perinatally HIV-Infected Children Enrolled in the PACTS-HOPE Cohort, 1999-2044: A Longitudinal Analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006 Apr 1;41(4):453–60.

Cheseaux J-J, Jotterand V, Aebi C, Gnehm H, Kind C, Nadal D, et al. Hyperlipidemia in HIV-infected children treated with protease inhibitors: relevance for cardiovascular diseases. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002 Jul 1;30(3):288–93.

Contri P V, Berchielli EM, Tremeschin MH, Negrini BVM, Salomao RG, Monteiro JP. Nutritional status and lipid profile of HIV-positive children and adolescents using antiretroviral therapy. *Clinics*. 2011;66(6):997–1002.

Daniels SR, Greer FR; Committee on Nutrition. Lipid screening and cardiovascular health in childhood. *Pediatrics*. 2008 Jul;122(1):198-208.

DDAHV. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. Política Brasileira de Enfrentamento da AIDS – Resultados, Avanços e Perspectivas. 2012a. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/publicacao/2013/politica-brasileira-de-enfrentamento-da-aids-2012>. Acesso em 07 de janeiro.

\_\_\_\_\_. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS. 2012b. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/publicacao/2012/boletim-epidemiologico-aids-e-dst-2012>. Acesso em 07 de janeiro.

\_\_\_\_\_. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS. 2013. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/publicacao/2013/boletim-epidemiologico-aids-e-dst-2013>. Acesso em 07 de janeiro.

Dejkharnon P, Unachak K, Aurrpibul L, Sirisanthana V. Insulin resistance and lipid Profiles in HIVinfected Thai children receiving lopinavir/ritonavir-based highly active antiretroviral therapy. *J Pediatr Endocr Met* 2013;aop.

Dubé MP, Cadden JJ. Lipid metabolism in treated HIV Infection. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011;25(3):429–42.

Farley J, Gona P, Crain M, Cervia J, Oleske J, Seage G, et al. Prevalence of Elevated Cholesterol and Associated Risk Factors Among Perinatally HIV-Infected Children (4-19 years old) in Pediatric AIDS Clinical Trials Group 219C. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005 Apr1;38(4):480–7.

FDA. Food and Drug Administration. Approved antiretroviral drugs for pediatric treatment of HIV infection. Disponível em: <http://www.fda.gov/%20ForConsumers/ByAudience/ForPatientAdvocates/HIVandAIDSActivities/ucm118951.htm> . Acesso em 08 de janeiro.

Geffner ME, Patel K, Miller TL, Hazra R, Silio M, Van Dyke RB, et al. Factors associated with insulin resistance among children and adolescents perinatally infected with HIV-1 in the pediatric HIV/AIDS cohort study. *Horm Res Pædiatr*. 2011 Jan;76(6):386–91.

Gutierrez AD, Balasubramanyam A. Dysregulation of glucose metabolism in HIV patients: epidemiology, mechanisms, and management. *Endocrine*. 2012;41:1-10.



Hazra R, Siberry GK, Mofenson LM. Growing up with HIV: Children, adolescents, and young adults with perinatally acquired HIV infection. *Annu Rev Med*. 2010; 61:169–85.

Heidari S, Mofenson LM, Hobbs C V, Cotton MF, Marlink R, Katabira E. Unresolved antiretroviral treatment management issues in HIV-infected children. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2012 Feb;59(2):161–9.

Jacobson DL, Williams P, Tassiopoulos K, Melvin A, Hazra R, Farley J. Clinical management and follow-up of hypercholesterolemia among perinatally HIV-infected children enrolled in the PACTG 219C study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011 Aug 15;57(5):413-20.

Kim JY, Zaoutis T, Mhs JC, Zhao H, Rutstein R. Effects of highly active antiretroviral therapy (HAART) on cholesterol in HIV-1 infected children: a retrospective cohort study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2009 Apr;18:589–94.

Lamb MM, Ogden CL, Carroll MD, Lacher DA, Flegal KM. Association of body fat percentage with lipid concentrations in children and adolescents: United States, 1999-2004. *Am J Clin Nutr*. 2011 Sep;94(3):877-83.

McComsey G A, Leonard E. Metabolic complications of HIV therapy in children. *AIDS*. 2004 Sep 3;18(13):1753–68.

McCordle BW, Urbina EM, Dennison BA, Jacobson MS, Steinberger J, Rocchini AP, et al. Drug therapy of high-risk lipid abnormalities in children and adolescents: a scientific statement from the American Heart Association Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in Youth Committee, Council of Cardiovascular Disease in the Young, with the C. *Circulation*. 2007 Apr 10;115(14):1948–67.

Melvin AJ, Lennon S, Mohan KM, Purnell JQ. Metabolic abnormalities in HIV type 1-infected children treated and not treated with protease inhibitors. *AIDS Res Hum Retroviruses*. . 2001 Aug 10;17(12):1117–23.

MS. Ministério da Saúde. *Recomendações para Terapia Antirretroviral em Crianças e Adolescentes Infectados pelo HIV*. 2009. Versão Final. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/publicacao/recomendacoes-para-terapia-antirretroviral-em-criancas-e-adolescentes-infectados-pelo-hiv>. Acesso em 08 de janeiro.

\_\_\_\_\_. *Recomendações para Terapia Antirretroviral em Crianças e Adolescentes Infectados pelo HIV*. 2009. Suplemento I. 2010. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/publicacao/recomendacoes-para-terapia-antirretroviral-em-criancas-e-adolescentes-infectados-pelo-hiv>. Acesso em 08 de janeiro.

\_\_\_\_\_. *Recomendações para Terapia Antirretroviral em Crianças e Adolescentes Infectados pelo HIV*. 2009. Suplemento II. 2011. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/publicacao/recomendacoes-para-terapia-antirretroviral-em-criancas-e-adolescentes-infectados-pelo-hiv>. Acesso em 08 de janeiro.

Nathan DM, Davidson MB, DeFronzo RA, Heine RJ, Henry RR, Pratley R et al. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance. *Diabetes Care*. 2007;30(3):753-9.

NDIC. National Diabetes Information Clearinghouse. Insulin resistance and prediabetes. Disponível em: <http://diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/insulinresistance/#resistance>. Acesso em 23 de janeiro.

Nelson RA, Bremer AA. Insulin Resistance and Metabolic Syndrome in the Pediatric Population, *Metab Syndr Relat Disord*. . 2010;8(1):1-14.

OMS. Organização Mundial da Saúde. Antiretroviral therapy of HIV infection in infants and children: towards universal access: recommendations for a public health approach. 2010. Disponível em: <http://www.who.int/hiv/pub/paediatric/infants2010/em/index.html>. Acesso em 08 de janeiro.

Palchetti CZ, Patin R V, Gouvea ADFTB, Szejnfeld VL, Succi RCM, Oliveira FLC. Body composition and lipodystrophy in prepubertal HIV-infected children. *Braz J Infect Dis*. 2013;17(1):1–6.

Palios J, Kadoglou NPE, Lampropoulos S. The pathophysiology of HIV-/HAART-related metabolic syndrome leading to cardiovascular disorders: the emerging role of adipokines. *Exp Diabetes Res*. . 2011 Jan;2012:103063.

Penazzato M, Donà D, Wool P-S, Rampon O, Giaquinto C. Update on antiretroviral therapy in paediatrics. *Antiviral Res*. 2010;85(1):266–75.

Rakhmanina N, Phelps BR. Pharmacotherapy of pediatric HIV infection. *Pediatr Clin N Am*. 2012 Oct;59(5):1093–115.

Reis LC, Rondo PHC, Marques HHS, Andrade SB. Dyslipidaemia and insulin resistance in vertically HIV-infected children and adolescents. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2011;105(4):197–203.

Rhoads MP, Lanigan J, Smith CJ, Lyall EG. Effect of specific ART drugs on lipid changes and the need for lipid management in children with HIV. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011 Aug 15;57(5):404-12.

Santos FS, Rangel LGG, Saucedo GP, Rosales GV, Novales MGM. Hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia in human immunodeficiency virus-1-infected children treated with protease inhibitors. *Arch Med Res*.. 2006 Jan; 37:129-132.

Rosso R, Parodi A, d'Annunzio G, Ginocchio F, Nicolini L, Torrisi C, et al. Evaluation of insulin resistance in a cohort of HIV-infected youth. *Eur J Endocrinol*. 2007 Nov;157(5):655–9.

Sarni ROS, De Souza FIS, Battistini TRB, Pitta TS, Fernandes AP, Tardini PC, et al. Lipodystrophy in children and adolescents with acquired immunodeficiency syndrome and its relationship with the antiretroviral therapy employed. *J Pediatr*. 2009;85(4):329–34.

SBC. Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2013. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Disponível em: [http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/V\\_Diretriz\\_Brasileira\\_de\\_Dislipidemias.pdf](http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/V_Diretriz_Brasileira_de_Dislipidemias.pdf). Acesso em 21 de janeiro.

Strehlau R, Coovadia A, Abrams EJ, Martens L, Arpadi S, Meyers T, et al. Lipid profiles in young HIV-infected children initiating and changing antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2012;60(4):369–76.

Sztam KA, Jiang H, Jurgrau A, Deckelbaum RJ, Foca MD. Early increases in concentrations of total, LDL, and HDL cholesterol in HIV-infected children following new exposure to antiretroviral therapy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011 Apr;52(4):495–8.

Tassiopoulos K, Williams PL, Seage GR, Crain M, Oleske J, Farley J. Association of Hypercholesterolemia Incidence With Antiretroviral Treatment, Including Protease Inhibitors, Among Perinatally HIV-Infected Children. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008 Apr 15;47(5):607–14.

UNAIDS. 2012 UNAIDS Report on the global AIDS epidemic. 2012. Disponível em: <http://www.unaids.org/em/resources/publications/2012/name,76121,em.asp>. Acesso em 07 de janeiro.

\_\_\_\_\_. 2013 UNAIDS Report on the global AIDS epidemic. 2013. Disponível em: <http://www.unaids.org/em/resources/publications/2013/name,85053,em.asp>. Acesso em 07 de janeiro.

Viganò A, Brambilla P, Pattarino G, Stucchi S, Fasan S, Raimondi C, et al. Long-term evaluation of glucose homeostasis in a cohort of HAART-treated HIV-infected children: a longitudinal, observational cohort study. *Clin Drug Investig*. 2009;29(2):101-9

Viganò A, Manfredini V, Penagini F, Giacomet V, Zuccotti G V. Antiretroviral drugs in HIV-infected children. *Pharmacol Res*. 2011;64(1):1–3.

Westat NICHD International Pediatric & Perinatal HIV Studies Network Web Site [Internet]. Bethesda: NICHD International Site Development Initiative (NISDI) (aproximadamente 1 página). Disponível em: <https://www.nichdclinicalstudies.org/SitePages/NISDI.aspx>. Acesso em 07 de janeiro.

## 6. ARTIGO

Associação da Incidência de Dislipidemia e Anormalidades de Glicose com o Tratamento Antirretroviral em uma Coorte de Crianças Infectadas pelo HIV na América Latina (NISDI/PLACES)

*Association of Dyslipidemia Incidence and Glucose Abnormalities with Antiretroviral Treatment in a Cohort of HIV-infected Latin American Children (NISDI/PLACES)*

**Machline Paim Paganella, Mestranda em Epidemiologia pela UFRGS;**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (UFRGS)

A ser enviado ao AIDS Journal.

Breve descrição:

O artigo estima a incidência de dislipidemias e anormalidades de glicose e sua associação com a exposição à HAART em crianças verticalmente infectadas pelo HIV. Através da análise do banco de dados do protocolo NISDI/PLACES um estudo multicêntrico de coorte longitudinal. Foram analisados os dados de 500 crianças da coorte NISDI PLACES. Estimou-se a incidência de dislipidemia (colesterol total, HDL, LDL e TG) e anormalidades da glicose (resistência à insulina e diabetes). As curvas de sobrevivência de Kaplan - Meier foram utilizadas para avaliar o tempo para o desenvolvimento de cada um dos desfechos de acordo com os diferentes regimes de ARV. A Regressão de Cox foi usada para avaliar fatores de risco, considerando o regime ARV e uma análise considerando tempo e regime ARV. Observou-se que os regimes de ARV contendo IP estão associados com maior risco de desenvolver anormalidades no colesterol e LDL colesterol total e triglicérides. Houve também incidência de resistência à insulina porém, não houve incidência de diabetes.

TITLE PAGE

Full title of the paper: Association of Dyslipidemia Incidence and Glucose Abnormalities with Antiretroviral Treatment in a Cohort of HIV-infected Latin American Children (NISDI/PLACES)

Short title:

Authors: (the authors are listed in alphabetical order)

|                                |                  |   |
|--------------------------------|------------------|---|
| Carmem Lúcia Oliveira da Silva | SILVA, CLO       | Hospital de Clinicas de Porto Alegre. Porto Alegre, RS, Brazil  |
| Fernanda Tomé Sturzbecher      | STURZBECHER, FT  | Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo           |
| Machline Paim Paganella        | PAGANELLA, MP    | Laboratório de Pesquisa em HIV/AIDS; Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brazil           |
| Noris Pavía-Ruz                | PAVÍA-RUZ, N     | Hospital Infantil de México Federico Gómez  |
| Rachel A. Cohen                | COHEN, RA        | Westat, Rockville, MD   |
| Ricardo de Souza Kuchenbecker  | KUCHENBECKER, RS | Postgraduate Program in Epidemiology, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil |
| D. Robert Harris               | HARRIS, DR       | Westat, Rockville, MD   |
| Rohan Hazra                    | HAZRA, R         | Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development, NIH, Bethesda, MD      |
| Rosa Dea Sperhackle            | SPERHACKE, RD    | Laboratório de Pesquisa em HIV/AIDS; Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brazil           |
| Sergio Kakuta Kato             | KATO, SK         | Laboratório de Pesquisa em HIV/AIDS; Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brazil           |
| Ricardo Hugo S. Oliveira       | OLIVEIRA, RHS    | Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira   |

NISDI Pediatric Study Group 2012

Sources of support: NICHD Contract# HHSN267200800001C (NICHD Control # N01-HD-8-0001. The authors have no other funding or conflicts of interest to disclosure.

PED 23 MANUSCRIPT

Association of Dyslipidemia Incidence and Glucose Abnormalities with  
Antiretroviral Treatment in a Cohort of HIV-infected Latin American Children  
(NISDI/PLACES)

ABSTRACT

Objective(s): To estimate the incidence of lipid and glucose metabolic abnormalities and their association with HAART exposure in protease inhibitors (PI) containing and non-PI containing regimens in perinatally HIV-infected children.

Design: Longitudinal cohort study.

Methods: We analyzed the data of 500 children from the NISDI PLACES cohort. We estimated the incidence of dyslipidemia (TC, HDL, LDL and TG) and glucose abnormalities (Insulin resistance and diabetes). Kaplan-Meier survival curves were used to evaluate the time to development of each outcome according to the different ARV regimens. A Cox proportional hazards model was used to evaluate it as risk factors, considering the ARV regimen used at baseline in the former and the ARV regimen as a time-varying covariate in the latter.

Results: Subjects receiving PI-containing regimens showed higher risk of developing abnormal cholesterol levels (HR=3.0, 95% confidence interval [CI]: 1.2-7.6; p=0.022); LDL cholesterol levels (HR=2.9, 95% CI: 1.01-8.0; p=0.047) and triglycerides levels (HR=2.7, 95% CI: 1.4-5.0; p=0.003) comparing to those not receiving ARVs.

Conclusion: Children and adolescents receiving a PI-containing regimen ARV showed substantially higher for developing abnormal total cholesterol, LDL cholesterol and triglycerides levels, and low HDL cholesterol levels.

KEY WORDS: children, HIV, protease inhibitors, dyslipidemia, glucose

## INTRODUCTION

Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) has demonstrated unquestionable value in reducing morbidity and mortality among HIV-infected children [1, 2]. Despite these benefits, studies have found an association between HAART and metabolic abnormalities including dyslipidemia and glucose abnormalities, such as insulin resistance (IR) and type II diabetes [3, 4, 5]. The persistence of these associations over time may raise the metabolic risk [6] and is of concern as HIV-infected children are expected to receive ART for life [7]. HIV infected children using HAART regimens including protease inhibitors (PIs) are approximately three times more likely to develop hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia [3]. Children receiving PI-containing HAART regimens present higher rates of hyperlipidemia in comparison to those not receiving PIs: 29% and 10%, respectively [8]. The PACTG 219C cohort study demonstrated that the risk of developing hypercholesterolemia increases in association with PI use, with 4.8 cases per 100 person-years of use of HAART regimens containing PIs in contrast to 0.7 cases per 100 person-years of use of HAART combinations without PIs [9]. Disorders of glucose metabolism, ranging from reduction in insulin sensitivity to impaired glucose tolerance (IGT) and diabetes mellitus, have also recently been recognized in HIV-infected adults [10, 11]. However, those disorders have not been sufficiently studied in HIV-infected children and adolescents receiving HAART [10]. Although HIV-1 infection alone may be independently linked to decreased insulin sensitivity [12], it has been fairly well established that PIs are associated with the emergence of IR in

HIV-infected adults. These same processes are occurring in children, but are less apparent clinically [10]. A cohort study found an IR prevalence of 15.2% in prepubertal and pubertal children with HIV infection [5]. However, prior analyses in the NISDI PLACES cohort did not confirm these results: Hazra and colleagues found a 6.8% prevalence of IR among children on HAART and no association of IR with ARV use [4]. Their analysis of those with HOMA-IR results available did demonstrate an association between PI exposure and higher levels of triglycerides and cholesterol [4]. Dyslipidemia and glucose abnormalities may increase the risk of cardiovascular disease and diabetes in HIV-infected children [2]. Studies have reported higher incidence of myocardial infarction in HIV-infected adults exposed to HAART including PIs [13]. The objective of the current study of perinatally HIV-infected children and adolescents in the NISDI PLACES cohort is to estimate the incidence of lipid and glucose metabolic abnormalities and their association with HAART exposure.



## METHODS

### *NISDI PLACES Cohort*

The source population for this study was the Pediatric Latin American Countries Epidemiologic Study (PLACES), a cohort study developed by the *Eunice Kennedy Shriver* National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) International Site Development Initiative (NISDI). NISDI PLACES was a prospective cohort study that enrolled perinatally HIV-infected children younger than 6 years of age from 2008 to 2011 at 14 clinical sites in three Latin American countries (12 sites in Brazil, one in Peru and one in Mexico). A full description of this cohort has been published elsewhere [4, 14]. The protocol was approved by the ethical review boards of each clinical center; the sponsoring institution (NICHD); the data management and statistical center (Westat, Rockville, MD) and the Brazilian National Ethics Committee (CONEP). Informed consent was obtained from the parents or guardians of participants.

### *Study Population*

Children enrolled in the NISDI PLACES protocol that were  $\geq 5$  years old at some point during study follow-up and not showing any of the studied outcomes at the baseline visit, where the first fasting test was performed, were eligible to participate. Lipid and glucose testing results obtained for children  $\geq 5$  years of age, where there was proof of specimen collection in a fasting state served as the basis for the analyses. The test results were used to determine the baseline prevalence and the incidence of the study outcomes. Children with a diagnosis of type I diabetes,

nephrotic or nephritic syndrome, uremia, or hypothyroidism at baseline were excluded from the study. Follow-up visits were conducted every six months.

### *Study definitions*

The following cutoffs were used to define an abnormal result for the different lipid measures: Cholesterol  $>200$  mg/dL; Triglycerides (TG) $>110$  mg/dL for age  $<10$  years and TG $>150$ mg/dL for age  $\geq 10$  years; HDL  $<35$  mg/dL; and LDL  $\geq 130$  mg/dL. Per protocol, children were asked to come in a fasting state, once a year for testing, after the age of 5 [3]. In accordance with WHO definitions, diabetes was defined as a fasting glucose  $\geq 126$  mg/dL, and a fasting glucose result of  $\geq 110$  to  $<126$  mg/dL was considered as impaired glucose metabolism [15]. The Centers for Disease Control and Prevention (CDC) definition of impaired fasting glucose (fasting glucose result of  $\geq 100$  to  $<126$  mg/dL) was also evaluated [16]. The Homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR score) was defined on the basis of the standard formulation of fasting insulin times fasting glucose, divided by 405 [17]. Insulin resistance was defined as HOMA-IR $>2.5$  in those with Tanner stage 1 or HOMA-IR  $> 4.0$  in those with Tanner stage  $>1$ .

### *Definitions of Prevalent and Incident abnormalities*

Prevalence rates at baseline were calculated separately for each outcome measure, with the baseline level defined as the first fasting test result reported for each study outcome. Cumulative incidence rates were defined as the occurrence of a glucose or lipid abnormal measure during study follow-up among children who had a normal measure at baseline (non-prevalent cases).

### *Statistical Analysis*

For each outcome, a binary variable was created at baseline and each visit (when available) as a binary indicator of abnormal vs. normal based on the aforementioned pre-defined cut points. Initial analyses estimated the prevalence of the outcomes at baseline. Subsequent analyses estimated the cumulative incidence for each outcome, along with the 95% confidence interval. In describing the characteristics of the study population at baseline, categorical variables were expressed as frequencies and percentages, whereas continuous variables were expressed as means  $\pm$  standard deviation (SD), and medians. The risk factor assessment examined associations of patient-level characteristics with the outcome measures. The Kaplan-Meier approach was used to graphically depict time-to-event (time to abnormalities) for each lipid outcome, stratified by type of ART regimen received at baseline.

The risk of metabolic abnormalities associated with ARV use was modeled using Cox proportional hazards regression modeling considering a time-varying covariate analysis. The risk of metabolic abnormalities associated with ARV use was modeled with ARV regimen as a time-varying covariate. This procedure allowed the ARV regimen to be updated, thus reflecting the actual regimen being used at the time when outcome events occurred. In order to avoid assigning risk to recently initiated ARV regimens and those that ceased being taken long before the timing of outcome events, a window of 14 to 183 days was used in capturing the ARV regimen. Thus, the ARV regimen used closest to the timing of the events that fell within this window period was used in the modeling. Consequently, if a subject switched ARV regimens within 14 days prior to an event, the ARV regimen they were receiving prior to change (more than 14 days before the event) would be used in the modeling.

Similarly, if they only began taking ARVs within 14 days of the event they would be treated as receiving no ARVs at the time. Reflecting the scheduling of the study visits (approximately 6-month intervals), ARVs used up to 183 days prior to events could be used in the modeling; it did not seem reasonable to assume that risk associated with use of a particular ARV regimen would persist for more than 6 months after it stopped.

All analyses were conducted using SAS version 9.2 or version 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC).

## RESULTS

Among the 500 children enrolled on the NISDI PLACES protocol, 112 were excluded from the present analysis due to the following reasons: 110 patients were younger than 5 years of age at their last study visit and therefore not subject to fasting metabolic laboratory testing, and 2 had one of the selected diagnoses associated with abnormalities of lipid or glucose metabolism identified for exclusion (Figure 1). The final analysis population consisted of 388 children; 385 of 388 children met the eligibility criteria for lipid profile analysis, 342 for insulin and 345 for glucose profile analyses.

Table 1 summarizes the characteristics of the study population. The average age ( $\pm$ standard deviation [SD]) of study participants eligible for this analysis was 6.6 ( $\pm$ 2.0) years and the majority (51.2%) were female. Most subjects (67.9%) were below the gender-specific age cut-off for assessment of Tanner Stage. According to the WHO standards, most of the individuals were classified as having normal body mass index (BMI) (83.5%), height (84.7%) and weight (87.2%) for age. Mean ( $\pm$ SD)  $\log_{10}$  viral load was 3.1 ( $\pm$ 1.3), with 34% having undetectable (<400 copies/mL) HIV RNA levels; most had high CD4 measures (71.6% with CD4% >25%, 88.3% CD4 absolute count  $\geq$ 500 cells/mm<sup>3</sup>). In terms of WHO immunological AIDS staging, 61.3% were classified as 'none or not significant'. The majority of patients (89.4%) had received ART prior to eligibility for the analysis, with the mean ( $\pm$ SD) duration of use being 4.6 years ( $\pm$ 2.8); 55.6% were currently receiving a PI-containing regimen at study eligibility. Self-reported adherence to ART was high among study participants; 89.4% indicated that they had taken all prescribed ART doses during the last 3 days prior to the eligibility visit.

There were no participants taking statins prior to eligibility and only 7.8% of the studied subjects received glucocorticoids, which included use of hydrocortisone, dexamethasone, budesonide, prednisone or prednisolone. Also, there were few reports at or prior to eligibility of obesity (2.1%) or lipodystrophy (fat accumulation, 1%; or loss, 2.9%), and there was no report of type II diabetes.

The mean ( $\pm$ SD) fasting glucose level at baseline was 78.4 ( $\pm$ 8.9) mg/dL; mean fasting insulin level was 4.2 ( $\pm$ 4.3) mU/l. The mean ( $\pm$ SD) HOMA-IR at baseline, calculated from baseline glucose and insulin levels was 0.84 ( $\pm$ 1.04). The mean ( $\pm$ SD) total, HDL, and LDL cholesterol levels at baseline were 162.0 ( $\pm$ 35.2), 44.4 ( $\pm$ 13.9) and 96.1 ( $\pm$ 30.2) mg/dL, respectively. The mean ( $\pm$ SD) baseline triglyceride level was 106.9 ( $\pm$ 55.3) mg/dL.

Table 2 summarizes the prevalence at baseline and the cumulative incidence of lipid, HOMA-IR and fasting glucose abnormalities during follow-up. A total of 59 (17.9%) of the 329 children developed hypercholesterolemia. The cumulative incidence of abnormal HDL and LDL was 19.2 and 14.9%, respectively. A total of 103 children developed hypertriglyceridemia, corresponding to a cumulative incidence of 43.1% (95%CI: 36.7-49.6%). With regard to glucose homeostasis, among the 342 eligible subjects, the prevalence of insulin resistance at baseline was 5.3% with a corresponding cumulative incidence of 3.8%. Although there were 2 subjects with diabetes at baseline (glucose  $\geq$ 126 mg/dL), there were no incidence cases; per WHO definition, there were 2 incident cases of impaired fasting glucose, although neither had an impaired fasting glucose at baseline.

The Kaplan-Meier plots are shown in the appendix of this paper. Time-to-event analysis for the development of hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia

indicated differences across strata defined by baseline ARV regimen that were at least of borderline significance ( $P = 0.062$  for the log rank test;  $0.058$  for the Wilcoxon test and  $P < 0.0001$  for the log rank and Wilcoxon tests; respectively). The overall tests of equality of event times for development of abnormal HDL indicated significant differences across strata defined by baseline ARV regimen ( $p=0.007$  for the log rank test;  $0.006$  for the Wilcoxon test). It appears from the Kaplan-Meier plot that the time to development of abnormal HDL for those receiving a PI-containing regimen at baseline did not differ from that of those receiving a non-PI-containing regimen. The overall tests of equality indicate that the plots of the event times for abnormal LDL did not differ across strata defined by baseline ARV regimen ( $p=0.12$  for the log rank test;  $0.10$  for the Wilcoxon test).

Table 3 shows the results of the Cox proportional hazards regression modeling considering ARV use as a time-varying covariate. Current ARV use was a significant risk factor for developing abnormal HDL cholesterol and hypertriglyceridemia ( $p<0.02$ ).

#### Hypercholesterolemia

We found an association of ARV regimen with the development of hypercholesterolemia ( $p=0.002$ ). Those receiving a PI-containing regimen were five times as likely to experience an abnormal cholesterol measure compared to those receiving no ARVs (HR=5.0, 95% CI: 1.5-16.0;  $p=0.007$ ). The risk of developing abnormal cholesterol levels was three times as high for those receiving a non-PI-containing regimen compared to those receiving no ARVs, but this difference was not statistically significant (HR=3.0, 95% CI: 0.8-10.5;  $p=0.09$ ).

### Abnormal HDL

Subjects receiving a PI-containing or a non-PI-containing regimen showed a reduced risk of experiencing an abnormal HDL (HR=0.3, 95% CI: 0.2-0.6,  $p<0.001$ ; and HR=0.2, 95% CI: 0.1-0.5,  $p<0.001$ , respectively).

### Abnormal LDL

Those receiving a PI-containing regimen were nearly three times as likely to experience an abnormal LDL cholesterol measure as those receiving no ARVs (HR=2.9, 95% CI: 1.01-8.0;  $p=0.047$ ). Those receiving a non-PI-containing regimen were nearly twice as likely to experience an abnormal LDL cholesterol measure as those receiving no ARVs, but this difference was not statistically significant (HR=1.7, 95% CI: 0.5-5.4;  $p=0.38$ ).

### Hypertriglyceridemia

Children on a PI-containing regimen were nearly three times as likely to experience an abnormal triglyceride measure as those receiving no ARVs (HR=2.7, 95% CI: 1.4-5.0;  $p=0.003$ ). Those receiving a non-PI-containing regimen appear to be less likely to experience an abnormal triglyceride measure as those receiving no ARVs, but this difference was not significant (HR=0.7, 95% CI: 0.3-1.6;  $p=0.45$ ).



## DISCUSSION

In the present study, we found that children and adolescents receiving a PI-containing ARV regimen showed substantially higher for developing abnormal total cholesterol, LDL cholesterol and triglycerides levels, and low HDL cholesterol levels. Further, those patients receiving a non-PI-containing regimens showed a lower risk for the aforementioned lipid changes comparing to the ones receiving PI-containing regimens. Children in our study were generally in good health with normal BMI, height and weight, and an immunological profile where most presented with high CD4 levels in accordance with high levels of self-reported ART adherence. With a mean duration of ART exposure of 4.6 years and approximately 56% receiving a PI-containing regimen, our study found a prevalence of dyslipidemia at baseline similar to what has been published and consistent with the previous report on baseline data from the NISDI cohort. Also, the cumulative incidence results raise the need for further study in the establishment of causality. In a randomized clinical trial, Sthrelau et al, found that initiation of PI-based regimens resulted in significant increases in total cholesterol, LDL and HDL and decreases in TC:HDL ratio and TG; even when virologically suppressed, a large proportion of children still had low HDL and high TG [19]. To our knowledge, the largest longitudinal study that examined the association of PIs and other ARVs with lipid levels in HIV-infected children was the study of Tassiopoulos et al, however, this study focused only on hypercholesterolemia [9].

Our results indicate that, although complications of glucose metabolism are uncommon, they do exist in HIV-infected children as shown in other studies [1, 20]. In addition to the 5.3% of the children we observed with abnormal HOMA-IR at

baseline, 3.8% developed abnormal HOMA-IR during the course of follow-up. This suggests that the proportion of children with insulin resistance is likely to continue to increase, as ARVs can interact with the physiologic insulin resistance induced by puberty itself [20]. The glucose abnormalities outcomes didn't have enough events to support Cox proportional hazards regression modeling.

A potential limitation of our analysis is that we did not evaluate factors such as maternal dyslipidemia or family history of heart disease, but this is not likely to have a major influence on our findings as some authors indicate these factors are unlikely to be associated with ART use.

Secondary to HIV infection itself, the explanation for the association between PIs and abnormal lipid levels remains unclear, with some hypotheses including their potential to increase lipid synthesis by liver enzymes or by inhibition of proteins involved in lipid metabolism and adipocyte differentiation [9]. The mechanism involved in glucose homeostasis alteration, especially insulin resistance, is also still under investigation but it seems to be related to the direct inhibition of the GLUT4 (insulin-responsive facilitative glucose transporter isoform 4) attributed to the use of HAART including PIs and NRTIs [5, 13].

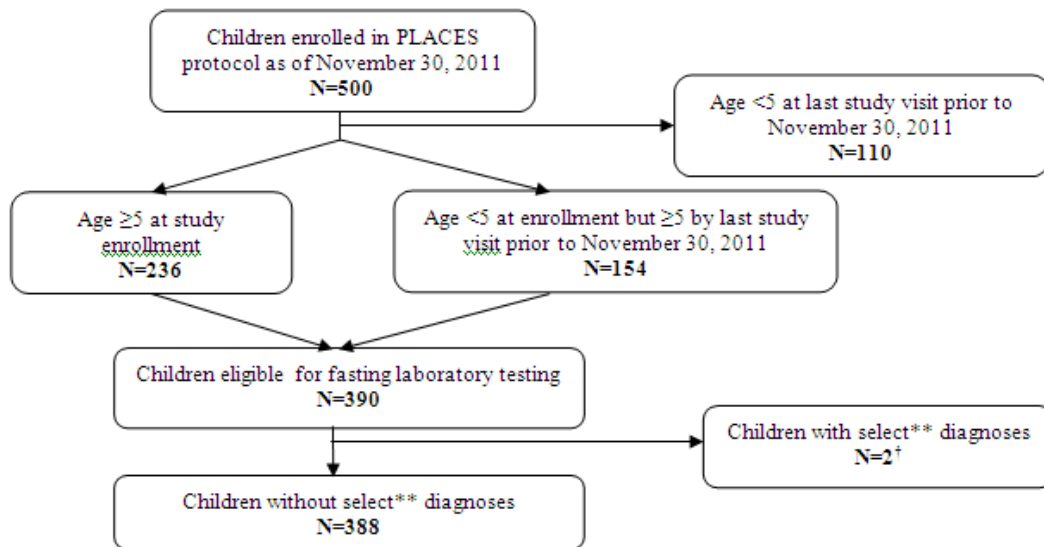
According to the UNAIDS 2013 Global Report, in 2012 there were 647,000 children under 15 years of age receiving antiretroviral treatment, an increase of 14% in comparison to 2011 [18]. With current WHO guidance that all HIV-infected children under 2 years should be treated with HAART, the number of children starting presumably lifelong HAART at those young ages will increase worldwide [21]. Those children will possibly experience the drug-related adverse events and toxicities that are increasingly recognized and represent one of the most common

reasons for treatment discontinuation or switch [22]. Metabolic complications of long term ARV exposure remain a serious and on-going problem for perinatally HIV-infected children, affecting their overall quality of life and influencing treatment adherence [1]. It is difficult to separate the impact of HIV infection from ART on serum lipid concentrations, which is why longitudinal analyses are important. This scenario is particularly concerning in the pediatric context, resulting in potentially harmful cardiovascular consequences and/or diabetes or metabolic disturbances [2, 3]. We found evidence of an association of ART including PIs with dyslipidemia. However, we agree with other authors that despite the potential adverse consequences of treatment of HIV-infected children with PIs, the benefits outweigh the toxicities, and that there is the need for ongoing metabolic monitoring of treated children [3, 7, 9, 19]. Continued study is needed to evaluate the remaining question of whether the metabolic abnormalities are associated with an increased risk of cardiovascular disease and how this scenario can be managed in children and adolescents [9]. The associations between ARV use in HIV-infected children and adolescents and glucose metabolism disturbances remain to be further investigated in future studies.

## REFERENCES

1. Barlow-Mosha L, Eckard AR, McComsey GA, Musoke PM. Metabolic complications and treatment of perinatally HIV-Infected children and adolescents. *JIAS*. 2013;16:18600.
2. Heidari S, Mofenson LM, Hobbs C V, Cotton MF, Marlink R, Katabira E. Unresolved antiretroviral treatment management issues in HIV-infected children. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2012 Feb1;59(2):161–9.
3. Brewinski M, Megazzini K, Hance LF, Cruz MC, Pavia-Ruz N, Della Negra M, et al. Dyslipidemia in a cohort of HIV-infected Latin American children receiving highly active antiretroviral therapy. *J Tropic Ped*. 2010 Oct 1;57(5):324–32.
4. Hazra R, Hance LF, Monteiro JP, Ruz NP, Machado DM, Saavedra M, Motta F, Harris DR; NISDI Pediatric Study Group 2012. Insulin resistance and glucose and lipid concentrations in a cohort of perinatally HIV-infected Latin American children. *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Jul;32(7):757-9.
5. Geffner ME, Patel K, Miller TL, Hazra R, Silio M, Van Dyke RB, et al. Factors associated with insulin resistance among children and adolescents perinatally infected with HIV-1 in the pediatric HIV/AIDS cohort study. *Horm Res Pædiatr*. 2011 Jan;76(6):386–91.
6. Dimock D, Thomas V, Cushing A, Purdy JB, Worrell C, Kopp JB, et al. Longitudinal assessment of metabolic abnormalities in adolescents and young adults with HIV-infection acquired perinatally or in early childhood. *Metabolism*. 2011 Jun;60(6):874-80.
7. Rhoads MP, Lanigan J, Smith CJ, Lyall EG. Effect of specific ART drugs on lipid changes and the need for lipid management in children with HIV. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011 Aug 15;57(5):404-12.
8. Aldrovandi GM, Lindsey JC, Jacobson DL, Zadzilka A, Sheeran E, Moye J, et al. Morphologic and metabolic abnormalities in vertically HIV-infected children and youth. *AIDS*. 2009;23(6):661–72.
9. Tassiopoulos K, Williams PL, Seage GR, Crain M, Oleske J, Farley J. Association of Hypercholesterolemia Incidence With Antiretroviral Treatment, Including Protease Inhibitors, Among Perinatally HIV-Infected Children. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008 Apr 15;47(5):607–14.
10. Rosso R, Parodi A, d'Annunzio G, Ginocchio F, Nicolini L, Torrisi C, et al. Evaluation of insulin resistance in a cohort of HIV-infected youth. *Eur J Endocrinol*. 2007 Nov;157(5):655–9.
11. Hadigan C. Diabetes, insulin resistance, and HIV. *Curr Infect Dis Rep*. 2006 Jan;8(1):69-75.

12. Palios J, Kadoglou NPE, Lampropoulos S. The pathophysiology of HIV-/HAART-related metabolic syndrome leading to cardiovascular disorders: the emerging role of adipokines. *Exp Diabetes Res.* 2011 Jan;2012:103063.
13. Gutierrez AD, Balasubramanyam A. Dysregulation of glucose metabolism in HIV patients: epidemiology, mechanisms, and management. *Endocrine.* 2012;41:1-10.
14. Hazra R, Stoszek SK, Freimanis Hance L, Pinto J, Marques H, Peixoto M, et al. Cohort Profile: NICHD International Site Development Initiative (NISDI): a prospective, observational study of HIV-exposed and HIV-infected children at clinical sites in Latin American and Caribbean countries. *Int J Epidemiol.* 2009 Oct;38(5):1207-14.
15. WHO/IDF. WHO Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia: Report of a WHO/IDF Consultation. Geneva, Switzerland; 2006 p.46. Available from: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241594934\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241594934_eng.pdf)
16. CDC. CDC Statements on Diabetes Issues. 2011. Available from: <http://www.cdc.gov/diabetes/news/class.htm>
17. Mathews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homesostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28:412-19.
18. UNAIDS. 2013 UNAIDS Report on the global AIDS epidemic. 2013. Available from: <http://www.unaids.org/em/resources/publications/2013/name,85053,em.asp>.
19. Strehlau R, Coovadia A, Abrams EJ, Martens L, Arpadi S, Meyers T, et al. Lipid profiles in young HIV-infected children initiating and changing antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2012;60(4):369–76.
20. Beregszaszi M, Dollfus C, Levine M, Faye A, Deghmoun S, et al. Longitudinal Evaluation and Risk Factors of Lipodystrophy and Associated Metabolic Changes in HIV-Infected Children. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005 Oct 1;40(2):161–8.
21. Hazra R, Cohen RA, Gonin R, Monteiro JP, Hofer CB, Negra MD, et al. Lipid levels in the second year of life among HIV-infected and HIV-exposed uninfected Latin American children. *AIDS.* 2012 Jan 14;26(2):235-40
22. Prosperi MC, Fabbiani M, Fanti I, Zaccarelli M, Colafigli M, Mondì A, et al. Predictors of first-line antiretroviral therapy discontinuation due to drug-related adverse events in HIV-infected patients: a retrospective cohort study. *BMC Infect Dis.* 2012 Nov 12;12:296.



**Figure 1:** Study Population Derivation

\*\* Any diagnosis of type I diabetes, nephrotic or nephritic syndrome, uremia, or hypothyroidism were excluded.

**Table 1.** Characteristics of the study population (N=385).

| <b>Demographic characteristics<sup>1</sup></b> | <b>Number (%)</b> |
|--|-------------------|
| <b>Age (years):</b>                            |                   |
| Mean (SD)                                      | 6.6 (2.0)         |
| Median   | 5.0               |
| <b>Gender: n (%)</b>                           |                   |
| Female   | 197 (51.2)        |
| Male   | 188 (48.8)        |
| <b>Race: n (%)</b>                             |                   |
| White  | 155 (40.3)        |
| Black  | 84 (21.8)         |
| Mestizo  | 144 (37.4)        |
| Mulato   | 2 (0.5)           |
| <b>Country</b>                                 |                   |
| Brazil   | 301 (78.2)        |
| Mexico   | 58 (15.1)         |
| Peru   | 26 (6.8)          |
| <b>Health Characteristics<sup>1</sup></b>      |                   |
| <b>Tanner Stage</b>                            |                   |
| Not Applicable <sup>2</sup>                    | 260 (67.9)        |
| I  | 93 (24.3)         |
| II   | 22 (5.7)          |
| III  | 6 (1.6)           |
| IV   | 2 (0.5)           |
| V  | 0                 |
| Missing  | 2                 |
| <b>WHO BMI for age z-score</b>                 |                   |
| <-2 SD (underweight)                           | 11 (3.4)          |
| -2 SD to +1SD (normal)                         | 268 (83.5)        |
| >+1 SD (overweight)                            | 30 (9.3)          |
| >+2 SD (obesity)                               | 12 (3.7)          |
| Missing  | 64                |
| <b>WHO height for age z-score</b>              |                   |
| <-2 SD   | 48 (15.0)         |
| Normal   | 272 (84.7)        |
| >+2 SD   | 1 (0.3)           |
| Missing  | 64                |

| <b>Health Characteristics<sup>1</sup></b> |            |
|---|------------|
| <b>WHO weight for age z-score</b>         |            |
| <-2 SD                                    | 28 (10.3)  |
| Normal                                    | 238 (87.2) |
| >+2 SD                                    | 7 (2.6)    |
| Missing                                   | 112        |
| <b>HIV Infection Measures</b>             |            |
| <b>Time since HIV diagnosis (years)</b>   |            |
| Mean (SD)                                 | 5.5 (2.2)  |
| Median                                    | 5.1        |
| <b>Log<sub>10</sub> viral load</b>        |            |
| Mean (SD)                                 | 3.1 (1.3)  |
| Median                                    | 2.6        |
| <b>Viral load categories</b>              |            |
| Undetectable (<400 copies/mL)             | 130 (34.2) |
| 400 to 5000 copies/mL                     | 118 (31.1) |
| 5001 to 50,000 copies/mL                  | 79 (20.8)  |
| ≥50,001 copies/mL                         | 53 (14.0)  |
| Missing                                   | 5          |
| <b>Viral load</b>                         |            |
| Undetectable (<400 copies/mL)             | 130 (34.2) |
| Detectable (≥ 400 copies/mL)              | 250 (65.8) |
| <b>CD4 count percent</b>                  |            |
| <15                                       | 19 (5.0)   |
| 15 to 25                                  | 89 (23.4)  |
| >25                                       | 272 (71.6) |
| Missing                                   | 5          |
| <b>CD4 count (cells/mm<sup>3</sup>)</b>   |            |
| <200                                      | 5 (1.3)    |
| 200-499                                   | 40 (10.4)  |
| ≥500                                      | 340 (88.3) |
| <b>CDC Classification</b>                 |            |
| N   | 28 (7.3)   |
| A   | 105 (27.3) |
| B   | 116 (30.2) |
| C   | 135 (35.2) |
| Missing                                   | 1          |



---

| <b>HIV Infection Measures</b>   |            |
|---|------------|
| <b>WHO classification</b>   |            |
| 1   | 177 (46.1) |
| 2   | 98 (25.5)  |
| 3   | 57 (14.8)  |
| 4   | 52 (13.5)  |
| Missing   | 1          |
| <b>WHO immunological staging</b>  |            |
| None or not significant   | 233 (61.3) |
| Mild  | 43 (11.3)  |
| Advanced  | 33 (8.7)   |
| Severe  | 71 (18.7)  |
| Missing   | 5          |
| <b>ART Measures</b>   |            |
| <b>Any (prior) ART?</b>   |            |
| Yes   | 344 (89.4) |
| No  | 41 (10.6)  |
| <b>Duration of exposure to ART prior to baseline (years)</b>              |            |
| Mean (SD)   | 4.6 (2.8)  |
| Median  | 4.5        |
| <b>Current ART regimen type</b>   |            |
| No ARVs   | 68 (17.7)  |
| NNRTI (-) PI (-)  | 13 (3.4)   |
| NNRTI (+) PI (-)  | 90 (23.4)  |
| NNRTI (-) PI (+)  | 206 (53.5) |
| NNRTI (+) PI (+)  | 8 (2.1)    |
| <b>Current ART regiment type</b>  |            |
| No ARVs   | 68 (17.7)  |
| PI-containing regimen   | 214 (55.6) |
| Non-PI-containing regimen   | 103 (26.8) |
| <b>Duration of exposure to current ART (years)</b>                        |            |
| Mean (SD)   | 3.5 (2.4)  |
| Median  | 3.8        |
| <b>Self-reported ART adherence among those receiving ARVs<sup>3</sup></b> |            |
| 100% adherence  | 279 (89.4) |
| <100% adherence   | 33 (10.6)  |
| Missing   | 5          |

---

<sup>1</sup> Where not available at time of eligibility, the most recent result prior to eligibility was selected. Missing data were not included in percentage calculations.

<sup>2</sup> Tanner Stage was not assessed for males less than 9 years of age and females less than 7 years of age.

<sup>3</sup> Percent adherence was determined in terms of numbers of ART doses missed relative to doses expected to be taken during the 3 day period prior to the study visit.

**Table 2.** Prevalence and Cumulative Incidence of Lipid, HOMA-IR, and Fasting Glucose Abnormalities.

| Abnormal Laboratory Measure                  | Total N | Baseline <sup>a</sup> Prevalence |                                | Cumulative Incidence on Study |     |                                |
|--|---------|----------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-----|--------------------------------|
|  |         | n                                | Percent (95% CI <sup>b</sup> ) | Total N <sup>c</sup>          | n   | Percent (95% CI <sup>b</sup> ) |
| Cholesterol (>200 mg/dL)                     | 385     | 44                               | 11.4% (8.4-15.0)               | 329                           | 59  | 17.9% (13.9-22.5)              |
| HDL (<35 mg/dL)                              | 385     | 89                               | 23.1% (19.0-27.7)              | 287                           | 55  | 19.2% (14.8-24.2)              |
| LDL (≥130 mg/dL)                             | 385     | 45                               | 11.7% (8.7-15.3)               | 328                           | 49  | 14.9% (11.3-19.3)              |
| Triglycerides (age-specific) <sup>d</sup>    | 385     | 138                              | 35.8% (31.1-40.9)              | 239                           | 103 | 43.1% (36.7-49.6)              |
| Glucose                                      |         |                                  |                                |                               |     |                                |
| Diabetes (≥126 mg/dL)                        | 345     | 2                                | 0.6% (0.1-2.1)                 | 266                           | 0   | 0.0% (0.0-1.4)                 |
| Impaired (110- <126 mg/dL)                   |         | 0                                | 0.0% (0.0-0.01)                |                               | 2   | 0.8% (0.1-2.7)                 |
| HOMA-IR (tanner stage-specific) <sup>e</sup> | 342     | 18                               | 5.3% (3.2-8.2)                 | 239                           | 9   | 3.8% (1.7-7.0)                 |

a. For these analyses, 'baseline' was defined as the first fasting test result for each measure.

b. CI= Confidence Interval; Exact Clopper-Pearson 95% CIs are shown.

c. The number missing results for determination of incidence on study (among those with a result at baseline) was as follows for each measure: cholesterol=12; triglyceride=8; HDL=9; LDL=12; Glucose=77; HOMA-IR=85. Missing are not included in Total N or in percent calculations.

d. Age < 10 years: abnormal triglycerides >110 mg/dL; Age ≥ 10 years: abnormal >150mg/dL.

e. Tanner Stage 1: HOMA-IR>2.5; Tanner stage >1: HOMA-IR>4.0.

**Table 3.** Proportional hazards regression modeling of risk of developing metabolic abnormalities associated with type of ARV regimen received.

| ARV models                  | Metabolic Outcomes                               |  |  |  |
|-----------------------------|--|--|--|--|
|                             | Total cholesterol<br><i>HR (95% CI); p-value</i> | HDL cholesterol<br><i>HR (95% CI); p-value</i> | LDL cholesterol<br><i>HR (95% CI); p-value</i> | Triglycerides<br><i>HR (95% CI); p-value</i> |
| ARV, time-varying covariate |  |  |  |  |
| PI-containing               | 5.0 (1.5-16.0); 0.007                            | 0.3 (0.2-0.6); <0.001                          | 2.9 (1.01-8.0); 0.047                          | 2.7 (1.4-5.0); 0.003                         |
| Non-PI-containing           | 3.0 (0.8-10.5); 0.090                            | 0.2 (0.1-0.5); <0.001                          | 1.7 (0.5-5.4); 0.380                           | 0.7 (0.3-1.6); 0.450                         |
| No ARVs                     | 1.0  | 1.0  | 1.0  | 1.0  |
| Overall p-value             | 0.002  | 0.002  | 0.046  | <0.001                                       |
| Events                      | 58   | 55   | 48   | 103  |
| Censored obs.               | 262  | 226  | 271  | 130  |

## 7. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo objetiva melhorar a compreensão da resposta metabólica precoce de crianças à TARV. Apesar de ainda não haver uma clareza na contribuição da infecção pelo HIV por si só e seu tratamento através de antirretrovirais, observa-se uma associação destes com o desenvolvimento de dislipidemias e alterações de glicose, que pode aumentar o risco de doenças cardiovasculares em crianças. No estudo de coorte aqui apresentado, crianças em uso de TARV incluindo Inibidores da Protease, tiveram aumentado o risco de desenvolver dislipidemia. A evolução na TARV alterou o perfil da infecção pelo HIV, a doença passou a ser considerada crônica e com isso, crianças infectadas pelo HIV podem chegar à fase adulta. Porém, estas crianças passam a crescer não apenas sob o efeito da infecção pelo HIV, mas sujeitas aos efeitos da exposição em logo prazo aos antirretrovirais. Estudos observacionais longitudinais são de imensa valia neste caso onde o sucesso de uma intervenção trás consigo os desafios de monitorar seu efeito já que não se deseja apenas reduzir a mortalidade, mas também, proporcionar qualidade de vida. Neste sentido, a identificação e comprovação de toxicidades é o primeiro passo para o estabelecimento de estratégias de controle e possíveis tratamentos no intuito de minimizar potenciais complicações. Nossos resultados, quando comparados à literatura, embasam a hipótese de que a TARV apresenta efeitos adversos relacionados ao desenvolvimento de alterações metabólicas em crianças como já estabelecido em adultos. A elucidação dos mecanismos pelos quais os antirretrovirais causam essas alterações ainda carece de estudo e comprovação. Espera-se que este estudo possa contribuir com a consolidação das evidências desses efeitos para a classe científica,

além de ajudar a proporcionar uma transição da infância para a fase adulta de crianças vivendo com HIV/AIDS com mais segurança e saúde.

## 8. ANEXOS

- a. Aprovação pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP e Aprovação pelo Comitê da Ética e Pesquisa
- b. Detalhes metodológicos adicionais *Concept Sheet*
- c. *Results of Kaplan-Meier Analyses*

**a. Aprovação pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP e Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UCS**



MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Conselho Nacional de Saúde  
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

**PARECER Nº 829/2002**

Registro CONEP = 3708 ( Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto )  
Registro CEP = - Processo nº 25000.0127130/2002-91  
Projeto de Pesquisa : "Estudo de observações prospectivas de crianças expostas ao HIV infectadas pelo HIV em Unidades Clínicas dos Países da América Latina e do Caribe" - versão 2.0 de 04/09/2001.  
Pesquisador Responsável : Dr. Ricardo da Silva Souza  
Instituição: Universidade de Caxias do Sul  
Área Temática Especial : pesquisa com cooperação estrangeira

Ao se proceder à análise das respostas ao parecer CONEP nº 452/2002, relativo ao projeto em questão, considerou-se que:

- a) Foram atendidas as solicitações do referido parecer;
- b) O projeto atende aos requisitos fundamentais da Resolução CNS 196/96 e 292/99 sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos;
- c) O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição supracitada

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto .

Situação : Projeto aprovado

Brasília, 17 de junho de 2002

  
WILLIAM SAAD HOSSNE  
Coordenador da CONEP-MS





UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL

Caxias do Sul, 09 de janeiro de 2008.

Parecer CEP N° 008/08

Ilmo. Sr.

Ricardo da Silva de Souza

Prezado Pesquisador:

Informamos que em reunião realizada em 08 de janeiro de 2008, o projeto de pesquisa **“Estudo epidemiológico pediátrico NISDI em países da América Latina (PLACES): Estudo prospectivo observacional de crianças infectadas pelo HIV em centros clínicos em países da América Latina.”** foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, tendo sido revisados os seguintes documentos:

- Protocolo número 02-CH-N270, versão 6.0 de 07/08/2007.
- Termo de Assentimento, versão de 17/12/2007.
- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, versão de 17/12/2007.

Conforme o protocolo verificado, o estudo apresenta mínimo risco aos sujeitos de pesquisa.

O pesquisador deverá apresentar relatório sobre o andamento da pesquisa e solicitar renovação desta aprovação anualmente.

Colocamo-nos à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessários.

Atenciosamente,

  
Prof. Dr. Celso Piccoli Coelho

Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa

## **b. Concept Sheet**

### **NICHD International Site Development Initiative: Pediatric Protocol Concept Sheet Form**

**Investigator name:** *Machline Paim Paganella*

**Date:** (28th October 2011) Updated on (20th January 2012) 14<sup>th</sup> Feb 2012

**Investigator site:** UCS Consortium of Sites (5083, 5084, 5085, 5086 and 5101)

**Investigator email:** [mppagane@ucs.br](mailto:mppagane@ucs.br)

This concept proposal should be brief (1-3 pages) and include the following:

1. Proposed title and names of potential participating investigators (if known).

*Association of Dyslipidemia Incidence and Glucose Abnormalities with Antiretroviral Treatment in a Cohort of HIV-infected Latin American and Caribbean Children (NISDI/PLACES)*

2. Briefly describe prior research that highlights importance of proposed research topic.

The benefits of Antiretroviral Treatment (ART) including Protease Inhibitors (PI) are unquestionable, reducing morbidity and mortality among HIV-infected children. However, as people are monitored on these regimens for longer periods of time, several potentially significant side effects have emerged.<sup>1-9</sup> As reported by Rhoads M.P. et al (2011), these effects are of concern as children will receive treatment for a large proportion of their life.<sup>10</sup> There have been an increasing number of reports describing a variety of metabolic abnormalities, including dyslipidemia, insulin resistance and changes in body fat distribution.<sup>1-7,11-13</sup> Studies of PI-containing regimens have documented alterations of serum lipids, with dyslipidemia ranging from 20% to 50% for those on a single PI to >90% for those on dual PI-containing regimens.<sup>13</sup> Dyslipidemia may develop early in children and adolescents using ART and seems to be associated with drug dosing and also may be more pronounced in children with higher PI levels. Farley et al (2005), found a significant association between hypercholesterolemia and current PI use in children; those who achieved the virologic suppression goal of <400 copies/mL had a hypercholesterolemia prevalence of 24%.<sup>14</sup> Other studies report estimates of the prevalence of lipodystrophy ranging from 1 to 43% in HIV-infected children.<sup>14,15</sup> The youngest patients, who will have the longest duration of PI exposure, were most likely to develop hypercholesterolemia in the Tassiopoulos K. et al (2008) incidence study; 4.2 cases per 100 person-years for children younger than 6 years of age vs. 2.3 cases per 100 person-years for children 13 years of age and older.<sup>8</sup> Lainka E. et al (2002) found significant changes in lipid metabolism in the majority of children on PI-containing regimens, whereas the lipid metabolism in children on dual-NRTI regimens remained largely unchanged.<sup>13</sup> The finding of significant, independent associations of hypercholesterolemia with viral suppression (<400 copies/mL) and younger age suggests that neither HIV viremia nor duration of HIV infection is an independent risk factor for

hypercholesterolemia.<sup>14</sup> Nevertheless, some studies also have shown that the dyslipidemia might reflect a subclinical alteration in adipose tissue and may allow the detection of patients who are at risk of developing lipodystrophy.<sup>4,7,16</sup> Consequently, the increased prevalence of hyperlipidemia among PI-treated HIV-infected patients raises the question as to whether prolonged administration of PI may, in the long term, translate into an increased risk for cardiovascular diseases in this population.<sup>2,3,5,10,11</sup>

Two large longitudinal studies have attempted to look at the effects of individual ARVs; however, both have focused on total Cholesterol levels.<sup>6,8,10</sup> Several other studies have evaluated the relation between HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy), PIs and dyslipidemia in children, but most of them were cross-sectional studies with small sample sizes. Further complicating evaluation of this relationship, prevalence does not necessarily imply causality, and there is difficulty in separating the impact of HIV infection from ART on serum lipid concentrations.<sup>10</sup> We propose an analysis of the incidence of hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia in the PLACES cohort, as well as evaluating whether ART, particularly PIs, are associated with increased lipid measures. The results can be added to the earlier cross-sectional evaluation of dyslipidemia in NISDI pediatric patients conducted by Brewinski M et al (2011) that showed that children on PI-containing HAART compared to those receiving NNRTI-containing HAART were approximately three times more likely to have hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia, independent of other risk factors.<sup>17</sup>

Disorders of glucose metabolism, ranging from reduction in insulin sensitivity to impaired glucose tolerance (IGT) and diabetes mellitus, have recently been recognized in HIV-infected patients.<sup>18,19</sup> Insulin resistance (IR) is characterized by decreased tissue sensitivity to insulin.<sup>20</sup> Although IR has been widely reported to occur among HIV-infected patients, this condition has not been well characterized in HIV-infected children and adolescents receiving HAART.<sup>18</sup> Geffner ME et al (2011) found a prevalence of 15.2% in prepubertal and pubertal children with HIV infection.<sup>21</sup> It has been suggested that several factors may contribute to the risk of developing IR in these subjects, including type and duration of antiretroviral agents, severity and duration of HIV infection, undetectable viral load, age, weight, BMI, HCV infection, and lipid abnormalities, but the small size of these pediatric studies has resulted in limited power to detect factors related to impairment of glucose homeostasis.<sup>18</sup> On the other hand, HIV-1 infection itself may be independently linked to the attenuation of insulin sensitivity.<sup>22</sup> It has been fairly well established that PIs are linked with pathogenesis of IR in HIV-infected adults and the same processes are occurring in children, but are less apparent clinically.<sup>18</sup> The Beregszaszi et al. (2005) study seems to confirm that reduced insulin sensitivity may develop progressively with increasing age and puberty.<sup>23</sup> Pubertal development is considered a critical period for IR, since during puberty a transition to a less insulin-sensitive state occurs mediated, at least partly, by hormonal changes.<sup>5,18</sup> Some cross-sectional studies<sup>5</sup> have identified an apparent lack of effect of PI therapy on glucose homeostasis, but this can be partly explained by prepubertal state. In this context, early recognition and management of IR may become an important aspect of long-term health maintenance for HIV-infected children and young adults.<sup>18,19</sup> The

Bitnun et al (2005) study suggests that, in HIV-infected children, the  $\beta$ -cell response to a reduction in insulin sensitivity is impaired by PI therapy and concludes that these children are at risk for the development of type 2 diabetes mellitus.<sup>24</sup>

3. Describe major goals of your proposal. List specific research hypotheses and how these relate to the primary objects of the NISDI Pediatric Protocol.

The aims of this study are to:

- Examine the incidence of dyslipidemia through Hypercholesterolemia and Hypertriglyceridemia (examining results from fasting samples );
- Examine the incidence of Insulin Resistance and Diabetes, identifying clinical correlates;
- Verify the increase in incidence of these disorders of glucose metabolism due to ARV (Antiretroviral) regimens containing PIs, as well as examining the cumulative effects of PIs over time; and
- Assess other risk factors associated with dyslipidemia and metabolic disturbances.

The hypothesis is that the incidence of dyslipidemia, Insulin Resistance, and Diabetes are all increased among those on PI-containing ART/HAART compared to those on other regimens or no ART (when ART regimen is treated as a time-dependent covariate). The aims and hypothesis of the present proposal are related to the first and second primary objectives of the PLACES protocol that concern assessing ART complications and the clinical characteristics of HIV-infected children.

The author intends to analyze the population of 500 perinatally-infected children from the Places Protocol (data from the Places/Pediatric Protocol Data Overview – Investigators’ meeting 2010).

Eligibility criteria:

1. Children enrolled on Pediatric and PLACES protocol
2. Children perinatally HIV-infected
3. Children with no dyslipidemia at baseline
4. Children with no diagnosis of diabetes type 2 at baseline and children not on insulin therapy at baseline.
5. Children with no diagnosis of diabetes type 1
6. Children with no diagnosis of nephrotic or nephritic syndrome, uremia, or hypothyroidism (may be restricted to active diagnoses within the year prior to baseline)
7. Children not taking appetite stimulants at baseline

Exclusion criteria:

1. Children with dyslipidemia at baseline

2. Children with a diagnosis of diabetes type 2 at baseline and children on insulin therapy at baseline.
  3. Children with a diagnosis of diabetes type 1
  4. Children with a diagnosis of nephrotic or nephritic syndrome, uremia, or hypothyroidism
  5. Children taking appetite stimulants?
4. List analysis variables including dependent variables (e.g., outcome variables), independent variables of primary interest (e.g., risk factors), and other variables to control in the analysis.

#### DEPENDENT VARIABLES (OUTCOMES)

- 2 groups of outcomes for incidence of lipid abnormalities:
  - Abnormal for any one of the four lipids measured
  - Abnormal for each individually:
    - Hypercholesterolemia
    - Hypertriglyceridemia
    - Abnormal HDL
    - Abnormal LDL
- 3 outcomes for incidence of glucose abnormalities (a continuum):
  - Insulin Resistance (HOMA-IR)
  - Impaired fasting glucose
  - Diabetes (fasting glucose in the diabetic range)

| <b>GLUCOSE ABNORMALITIES</b> |  |  |  |
|------------------------------|--|--|--|
| <b>Outcome</b>               | <b>Definition</b>  | <b>Abnormal Range</b>  | <b>Reference</b>   |
| Diabetes Mellitus            | Type 2 diabetes occurs when insulin secretion is inadequate to meet the increased demand posed by insulin resistance.  | Fasting plasma glucose $\geq$ 7.0 mmol/l ( $\geq$ 126 mg/dl) $\ddagger$ .  | Global IDF/ISPAD Guideline for Diabetes in Childhood and Adolescence, 2011 <sup>25</sup> |
| Impaired Fasting Glucose     |  | Fasting plasma glucose ( $\geq$ 100 mg/dl and $<$ 126 mg/dl)   |  |
| Insulin Resistance           | Insulin resistance is an impaired response to the physiologic effects of insulin, including effects on glucose, lipid, and protein metabolism, and on vascular endothelial function. | Abnormal (insulin resistance) = HOMA-IR $>$ 2.5 in children (Tanner stage =1) or HOMA-IR $>$ 4.0 in adolescents (Tanner stage $>$ 1)<br>HOMA-IR = fasting insulin [mIU/mL] times fasting glucose [mg/dL], divided by 405 | Global IDF/ISPAD Guideline for Diabetes in Childhood and Adolescence, 2011 <sup>25</sup> |

| <b>DYSLIPIDEMIA</b>                                  |   |  |  |
|--|---|--|--|
| <b>Outcome</b>                                       | <b>Definition</b>   | <b>Abnormal Range</b>  | <b>Reference</b>   |
| Dyslipidemia (for any of the four measured)          | Dyslipidemia is present if one or more the lipid (TC, LDL-C, apoB, non-HDL-C, and TG and low HDL-C and apoA-I), lipoprotein, or apolipoprotein levels are abnormal. | Hypercholesterolemia, or hypertriglyceridemia or high LDL or low HDL | Recognition and Management of Dyslipidemia 2008, 93(11):4200–4209. <sup>26</sup>             |
| Hypercholesterolemia                                 | Total Cholesterol (TC)  | ≥200mg/dL  | NCEP Expert Panel on Blood Cholesterol levels in children and adolescents 1992 <sup>27</sup> |
| Hypertriglyceridemia                                 | Triglyceride (TG)   | If age ≥ 10 years then abnormal >150mg/dL                            |  |
|  |   | If age ≥ 10 years then abnormal >110 mg/dL                           |  |
| Calculated low density lipoprotein-cholesterol (LDL) |   | ≥130mg/dL  | NCEP Expert Panel on Blood Cholesterol levels in children and adolescents 1992 <sup>27</sup> |
| High density lipoprotein-cholesterol (HDL)           |   | <35 ( <b>abnormal</b> )<br>≥35 (normal)                              |  |

#### *INDEPENDENT VARIABLES (RISK FACTORS)*

- Baseline demographic and clinical data
  - Gender
  - Age
  - Country (Argentina, Brazil, Jamaica, Mexico, Peru)
  - Race (White, Black, Mestizo, Mulato,
  - Duration of HIV infection
- Antiretroviral therapy categories: ARV treatment (HAART, ART); PI-containing ARV treatment; No ARV
  - PI-containing ART (+NRTIs)
    - Describe number of PI+NNRTI-containing ART (+NRTI) vs. number of PI-containing without NNRTI
  - NNRTI-containing ART (+NRTIs)
  - Other ART
    - Will Review ‘other’ regimens and describe more completely (probably mono and dual NRTI)
  - No ARV

Dubé et al (2011) summarized the propensity for commonly used ARVs to cause dyslipidemia as follows:

| Propensity to cause dyslipidemia | PIs   | NRTIs   |
|----------------------------------|---|---|
| HIGH                             | Fosamprenavir-ritonavir;<br>Lopinavir-ritonavir; Tipranavir-ritonavir | Stavudine   |
| INTERMEDIATE                     | Indinavir-ritonavir; Nelfinavir                                       | Didanosine; zidovudine                            |
| LOW                              | Atazanavir-ritonavir; Darunavir-ritonavir; Saquinavir-ritonavir       | Abacavir; Emtricitabine;<br>Lamivudine; Tenofovir |

The NNRTI efavirens and nevirapine result in substantial increases in HDL levels, often in range of 8-10 mg/dL. Efavirens use results in mild increases in triglycerides and LDL as compared to nevirapine<sup>12</sup>.

- Duration of exposure to current ART
- Duration of exposure to any ART (mean, median)
- Viral load categories
  - Undetectable as 400 or fewer copies/mL
  - 401 to 5000 copies/mL
  - 5001 to 50,000 copies/mL
  - >50,001 copies/mL
- Viral load area under the curve (viremia copy years) as a proxy indicator of adherence (need a more specific definition).
- Self-reported adherence to ART

Cole and coworkers developed a copy-years viremia as a measure of cumulative plasma HIV-1 viral load amongst a cohort of 297 adult men from the Multicenter AIDS Cohort Study. The study estimated Cox proportional hazards models for the time from seroconversion to AIDS or death (i.e., infection duration). The study concluded that copy-years viremia was associated with AIDS or death independently of infection duration, age, race, CD4 cell count, viral load set-point, peak viral load, or most recent viral load.<sup>29</sup> Viremia copy-years predicted all-cause mortality independent of traditional, cross-sectional viral load measures and time-updated CD4+ in antiretroviral treated patients, suggesting that cumulative HIV replication causes harm that is independent of its effects on the degree of immunodeficiency.<sup>30</sup>

The viremia copy-years (viral load area under the curve) may be a proxy indicator of adherence. Bell and colleagues developed an empirical Bayesian approach to determine the ability of the change in cholesterol concentration to identify the adherence of the patients to treatment when plotted using receiver operating characteristic curves. The study estimated post-test probability of non-adherence for levels of population non-adherence that differed from those in a randomized controlled trial. The study concluded that monitoring concentration of cholesterol has a modest ability to detect complete non-adherence in pravastatin use and weak ability to detect partial non-adherence.<sup>31</sup>

- CD4 cell counts categories
  - <15%
  - 15 to 25%
  - >25%

- CDC disease Classification
  - N
  - A
  - B
  - C
- Tanner stages of physical development
  - I
  - II
  - III
  - IV
  - V
- AST
- ALT
- Lipase
- WHO Standard body mass index-for-age (z-score)
  - $\leq 5^{\text{th}}$  (underweight)
  - 5-84<sup>th</sup> (normal)
  - 85-94<sup>th</sup> (at risk of overweight)
  - $\geq 95^{\text{th}}$  (overweight)
- Health related characteristics as potential predictors
  - Obesity
  - Lipodistrophy
  - Nephrotic syndrome,
  - Hypothyroidism
- Fasting glucose
- Fasting insulin

5. Statistical methods/approaches anticipated for the manuscript (investigators are encouraged to consult with Westat senior biostatistician and/or senior epidemiologist as needed).

As the author intends to develop this proposal analysis as part of her Master's degree in Epidemiology, the statistical analysis will be under her responsibility, whereas the Westat biostatistician and epidemiologist will be contacted for final review, if agreed.

Incidence rates will be calculated as the number of events divided by person-time at risk. Confidence intervals (95%) will be estimated under a Poisson distribution. Hazard ratios will be calculated using Cox proportional hazards models. Qualitative variables will be expressed as absolute numbers and percentages, whereas quantitative variables as mean  $\pm$  SD.

**Hypercholesterolemia** (Serum cholesterol level of  $\geq 200\text{mg/dL}$  in fasting samples) incidence will be defined as the occurrence of a total cholesterol value greater than or equal to  $200\text{mg/dL}$  among children who had a total cholesterol level  $< 200\text{mg/dL}$  at



baseline.<sup>8,17</sup> A subanalysis will examine persistence of hypercholesterolemia among subjects with sufficient follow-up after the incident measure.

**Hypertriglyceridemia** (Serum triglyceride level of  $\geq 150$ mg/dL if age  $\geq 10$  years and  $>110$ mg/dL if age  $<10$  years in fasting samples) incidence will be defined as the occurrence of a high triglyceride value among children who had a normal serum triglyceride at baseline.<sup>28</sup> A subanalysis will examine persistence of hypertriglyceridemia among subjects with sufficient follow-up after the incident measure.

**Low HDL** (hypoalphalipoproteinemia; Serum HDL level of  $<35$ mg/dL in fasting samples) incidence will be defined as the occurrence of a HDL value less than 35mg/dL among children who had a HDL level greater than or equal to 35mg/dL T baseline. A subanalysis will examine persistence of Low HDL among subjects with sufficient follow-up after the incident measure.

**High LDL** (Serum LDL level of  $>130$ mg/dL in fasting samples) incidence will be defined as the occurrence of a LDL value greater than 120mg/dL among children who had a LDL level less than or equal to 130mg/dL at baseline. A subanalysis will examine persistence of High HDL among subjects with sufficient follow-up after the incident measure.

**Insulin Resistance (IR)** will be assessed using the homeostasis model assessment (HOMA-IR) originally described by Mathew et al.<sup>32</sup> HOMA-IR will be calculated using the following formula:

$$\text{HOMA-IR (mg/dL} \times \mu\text{U/ml)} = \frac{\text{fasting glucose (mg/dL)} \times \text{fasting insulin } (\mu\text{U/ml)}}{405}$$

HOMA cut-off values need to be defined in the pediatric population; however, values near to 3 seem to be adequate.<sup>33,34</sup> Geffner ME et al (2011) defined IR as  $>2.5$  in prepubertal (Tanner stage 1) or  $>4$  in pubertal aged children (Tanner stage  $> 1$ ).

The relationships between IR and clinical characteristics of the patients will be evaluated by correlating HOMA-IR index with baseline characteristics of the patients, using the Pearson correlation coefficient, at univariate analysis and a multiple linear regression for the multivariate analysis. Comparisons of continuous HOMA-IR by categorical characteristics will be conducted use t-test or ANOVA, and potentially nonparametric procedures including the Kruskal-Wallis test. Multiple linear regression modeling analysis will be used to establish the independent effect of PI therapy and other variables on glucose homeostasis outcomes.

Categorical IR (according to the cutoffs defined above) will also be examined. Chi-square and Fisher's exact tests will be used for univariate analyses of categorical characteristics and the t-test or nonparametric testing for continuous characteristics. Logistic regression will be used for multivariable analyses.

A subanalysis will examine persistence of IR among subjects with sufficient follow-up after the incident measure.

**Impaired Fasting Glucose** (fasting plasma glucose level of  $\geq 110$  and  $< 126$ ) incidence will be defined as the occurrence of a fasting plasma glucose level  $\geq 110$ mg/dL and  $< 126$ mg/dL among children who had a fasting plasma glucose level  $< 110$ mg/dL at baseline. A subanalysis will examine persistence of Impaired Fasting Glucose among subjects with sufficient follow-up after the incident measure.

**Diabetes mellitus** will be defined as fasting plasma glucose of 7mmol/L or higher according to Global IDF/ISPAD Guideline for Diabetes in Childhood and Adolescence, 2011. Brown et al (2005) reported that the incidence of Diabetes Mellitus in HIV-infected men with HAART exposure was greater than 4 times that of HIV-seronegative men<sup>35</sup>. A subanalysis will examine persistence of fasting plasma glucose within the range for Diabetes among subjects with sufficient follow-up after the incident measure.

6. If repository specimens are needed to generate data for this analysis, indicate the specimen type and visit number(s), along with minimum amount/volume required. For example, 0.5 mL plasma specimens from the 32-36 weeks gestation visit.

Not applicable.

7. Proposed timeline for completion of analysis.

12 months.

8. References.

1. Melvin AJ, Lennon S, Mohan KM, Purnell JQ. Metabolic abnormalities in HIV type 1-infected children treated and not treated with protease inhibitors. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2001;17:1117–1123.
2. Carter RJ, Wiener J, Abrams EJ, Farley J, Nesheim S, Palumbo P, Bulterys M; Perinatal AIDS Collaborative Transmission Study-HIV Follow-up after Perinatal Exposure (PACTS-HOPE) Group. Dyslipidemia among perinatally HIV-infected children enrolled in the PACTS-HOPE Cohort, 1999–2004: a longitudinal analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2006;41:453–460.
3. McComsey G, Leonard E. Metabolic complications of HIV therapy in children. *AIDS*. 2004 Sep 3;18(13):1753- 68.

4. Jaquet D, Lévine M, Ortega-Rodriguez E, Faye A, Polak M, Vilmer E, Lévy-Marchal C. Clinical and metabolic presentation of the lipodystrophic syndrome in HIV-infected children. *AIDS*. 2000;14:2123-8, doi: 10.1097/00002030-200009290-00008.
5. Bitnun A, Sochett E, Babyn P, Holowka S, Stephens D, Read S, King SM. Serum lipids, glucose homeostasis and abdominal adipose tissue distribution in protease inhibitor-treated and naïve HIV-infected children. *AIDS*. 2003;17:1319–1327.
6. Kim YK, Zaoutis T, Chu J, Zhao H, Rutstein R. Effects of highly active antiretroviral therapy (HAART) on cholesterol in HIV-1 infected children: a retrospective cohort study. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*. 2009; 18:589-594.
7. Contri PV, Berchielli EM, Tremeschin MH, Negrini BV, Salomão RG, Monteiro JP. Nutritional status and lipid profile of HIV-positive children and adolescents using antiretroviral therapy. *CLINICS* 2011;66(6):997-1002, doi: 10.1590/S1807-59322011000600013.
8. Tassipoulos K, Williams PL, Seage GR, Crain M, Oleske J, Farley J. Association of hypercholesterolemia incidence with antiretroviral treatment, including protease inhibitors, among perinatally HIV-infected children. *J. Acquir Immune Defic Syndr*. 2008;45(5):607-614.
9. Santos FS, Rangel LGG, Saucedo GP, Rosales GV, Novales MGM. Hypertriglyceridemia and Hypercholesterolemia in Hum Immunodeficiency Virus-1-infected children treated with protease inhibitors. *Archives of Medical Research* 2006;37:129-132.
10. Rhoads MP, Lanigan J, Smith CJ, Lyall AGH. Effect of specific ART drugs on lipid changes and the need for lipid management in children with HIV. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011; 57: 404–412.
11. Cheseaux JJ, Jotterand V, Aebi C, Gnehm H, Kind C, Nadal D, Rudin C, Lazarevitch CA, Nicod P, Mooser V. Hyperlipidemia in HIV-infected children treated with protease inhibitors: relevance for cardiovascular diseases. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;30:288–293.
12. Bubé MP, Cadden JJ. Lipid metabolism in treated HIV infection. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011; 25: 429-442.
13. Lainka E, Oezbek S, Falck M, Ndagijimana J, Niehues T. Marked dyslipidemia in human immunodeficiency virus-infected children on protease inhibitor-containing antiretroviral therapy. *Pediatrics*. 2002;110:56–62.

14. Farley J, Gona P, Crain M, Cervia J, Oleske J, Seage G, Lindsey J; Pediatric AIDS Clinical Trials Group Study 219C Team. Prevalence of elevated cholesterol and associated risk factors among perinatally HIV-infected children (4–19 years old) in Pediatric AIDS Clinical Trials Group 219C. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005;38:480–487.
15. Brambilla P, Bricalli D, Sala N, Renzetti F, Manzoni P, Vanzulli A, Chiumello G, di Natale B, Viganò A. Highly active antiretroviral-treated HIV-infected children show fat distribution changes even in absence of lipodystrophy. *AIDS*. 2001;15:2415-24, doi: 10.1097/00002030-200112070-00009.
16. Viganò A, Mora S, Testolin C, Beccio S, Schneider L, Bricalli D, Vanzulli A, Manzoni P, Brambilla P. Increased lipodystrophy is associated with increased exposure to highly active antiretroviral therapy in HIV-infected children. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;32:482–489.
17. Brewinski M, Megazzini K, Freimanis Hance L, Cruz MC, Pavia-Ruz N, Della Negra M, Ferreira FG, Marques H, Hazra R; for the NISDI Pediatric Study Group 2010. Dyslipidemia in a cohort of HIV-infected Latin American children receiving highly active antiretroviral therapy. *J Trop Pediatr*. 2011 Oct;57(5):324-332. Epub 2010 Oct 1.
18. Rosso R, Parodi A, d'Annunzio G, Ginocchio F, Nicolini L, Torrisi C, Sormani MP, Lorini R, Viscoli C, Vignolo M. Evaluation of insulin resistance in a cohort of HIV-infected youth. *European Journal of Endocrinology*. 2007; 157: 655-659.
19. Hadigan C. Diabetes, insulin resistance, and HIV. *Curr Infect Dis Rep*. 2006;8(1):69-75.
20. Midro AT. Insulin resistance in children. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab*. 2011; 17(4):206-13.
21. Geffner ME, Patel K, Miller TL, Hazra R, Silio M, Van Dyke RB, Borkowsky W, Worrell C, DiMeglio LA, Jacobson DL. Factors associated with insulin resistance among children and adolescents perinatally infected with HIV-1 in the Pediatric HIV/AIDS Cohort Study. *Horm Res Paediatr* 2011; 46:386-391.
22. Palios J, Kadoglou NPE, Lampropoulos S. The pathophysiology of HIV-/HAART-Related Metabolic Syndrome leading to cardiovascular disorders: The emerging role of adipokines. *Experimental Diabetes Research*. 2011; Review Article 2012: 1-7.

23. Beregszaszi M, Dollfus C, Levine M, Faye A, Deghmoun S, Bellal N, Houang M, Chevenne D, Hankard R, Bresson JL, Blanche S, Levy-Marchal C. Longitudinal evaluation and risk factors of lipodystrophy and associated metabolic changes in HIV-infected children. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005;40:161–168.
24. Bitnun A, Sochett E, Dick PT, To T, Jefferies C, Babyn P, Forbes J, Read S, King SM. Insulin sensitivity and  $\beta$ -cell function in protease inhibitor-treated and naïve Human Immunodeficiency Virus-infected children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(1):168-174.
25. Global IDF/ISPAD Guideline for Diabetes in Childhood and Adolescence, 2011. Available at <http://www.idf.org/global-idfispad-guideline-diabetes-childhood-and-adolescence> (20 January 2012, date last accessed).
26. Recognition and Management of Dyslipidemia in Children and Adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*, November 2008, 93(11):4200–4209.
27. The Expert Panel of the National Cholesterol Education Program. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). *JAMA* 2001;285:2486-2497.
28. Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC). IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose. Departamento de aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia.* 2007. Available at [http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2007/IV\\_diretriz\\_DA.asp](http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2007/IV_diretriz_DA.asp) (27 October 2011, date last accessed).
29. Cole SR, Napravnik S, Mugavero MJ, Lau B, Eron Jr JL, Saag MS. Copy-years viremia as a measure of cumulative Human Immunodeficiency Virus burden. *Am J Epidemiol* 2010; 171:198-205.
30. Mugavero MJ, , Napravnik S, Cole SR, Eron Jr JL Lau B, Crane HM, Kitahata MM, Willig JH, Moore RD, Deeks SG, Saag MS Viremia Copy-Years Predicts Mortality Among Treatment-Naive HIV-Infected Patients Initiating Antiretroviral Therapy. *CID* 2012; 53:927-935.
31. Bell.KJL, Kirby A, Hayen A, Irwig L, Glasziou P. Monitoring adherence to drug treatment by using change in cholesterol concentration: secondary analysis of trial data. *BMJ* 2011; 342:d12
32. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC: Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from

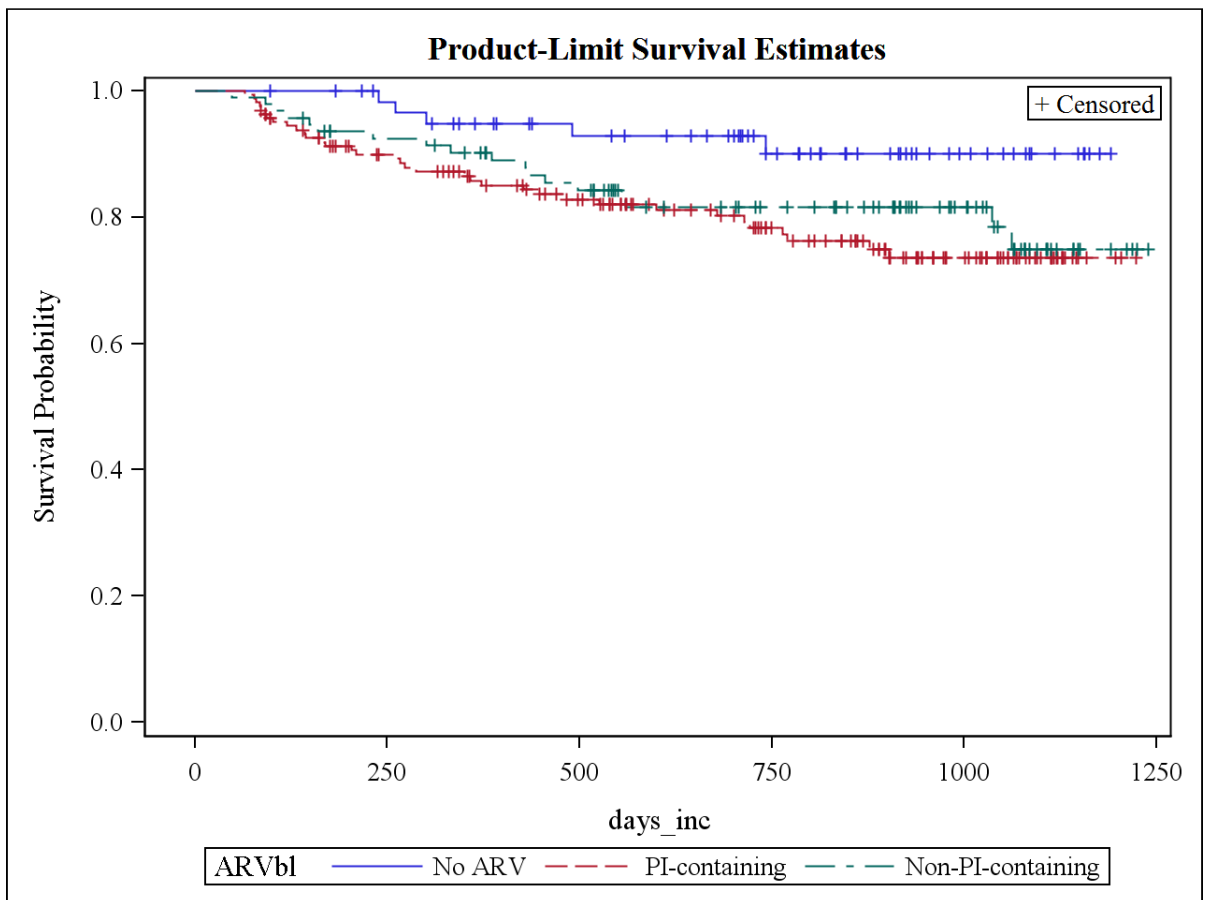
- fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28: 412–419, 1985.
33. Tresaco B, Bueno G, Pineda I, Moreno LA, Garagorri JM, Bueno M. Homeostatic model assessment (HOMA) index Cut-off values to identify the metabolic syndrome in children. *J. Physiol. Biochem.* 2005; 61(2): 381-388.
  34. Sarni ROS, Souza IS, Battistini TRB, Pitta TS, Fernandes AP, Tardini PC, Fonseca FLA, Santos VP, Lopez FA. Lipodystrophy in children and adolescents with acquired immunodeficiency syndrome and its relationship with the antiretroviral therapy employed. *J Pediatr (Rio J)*. 2009; 85(4): 329-334.
  35. Brown TT, Cole SR, Li X, Kingsley LA, Palella FJ, Riddler SA, Visscher BR, Margolick JB, Dobs AS. Antiretroviral therapy and the prevalence and incidence of diabetes mellitus in the multicenter AIDS Cohort Study. *Arch Intern Med* 2005; 165:1179-1184.
  36. World Health Organization (WHO). WHO case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2007. Available at <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/hivstaging/en/index.html>. (7 October 2011, date last accessed).
  37. Centers for Diseases Control and Prevention. 1994. Revised Classification System for Human Immunodeficiency Virus Infection in Children Less Than 13 Years of Age. *MMWR* 43(RR-12);1-10. Available at: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00032890.htm> (7 October 2011, date last accessed).
  38. Fletcher B, Berra K, Ades P, Braun LT, Burke LE, Durstine JL, Fair JM, Fletcher GF, Goff D, Hayman LL, Hiatt WR, Miller NH, Krauss R, Kris-Etherton P, Stone N, Wilterdink J, Winston M; Council on Cardiovascular Nursing; Council on Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology; Council on Basic Cardiovascular Sciences; Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Clinical Cardiology; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; Council on Stroke; Preventive Cardiovascular Nurses Association. Managing abnormal blood lipids: a collaborative approach. *Circulation*. 2005; 112: 3184-3209 doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.169180.
  39. World Health Organization (WHO). WHO Child Standards: Methods and development: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age. Methods and development. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2006. Available at [http://www.who.int/childgrowth/publications/technical\\_report\\_pub/en/index.html](http://www.who.int/childgrowth/publications/technical_report_pub/en/index.html) (25 October 2011, date last accessed).

40. Shinohara K, Shoji T, Emoto M, Tahara H, Koyama H, Ishimura E, Miki T, Tabata T, Nishizawa Y. Resistance as an Independent Predictor of Cardiovascular Mortality in Patients with End-Stage Renal Disease J Am Soc Nephrol. 2002;13:1894-1900.

*c. Paper Appendix - PED-23: Results of Kaplan-Meier Analyses*

**Hypercholesterolemia**

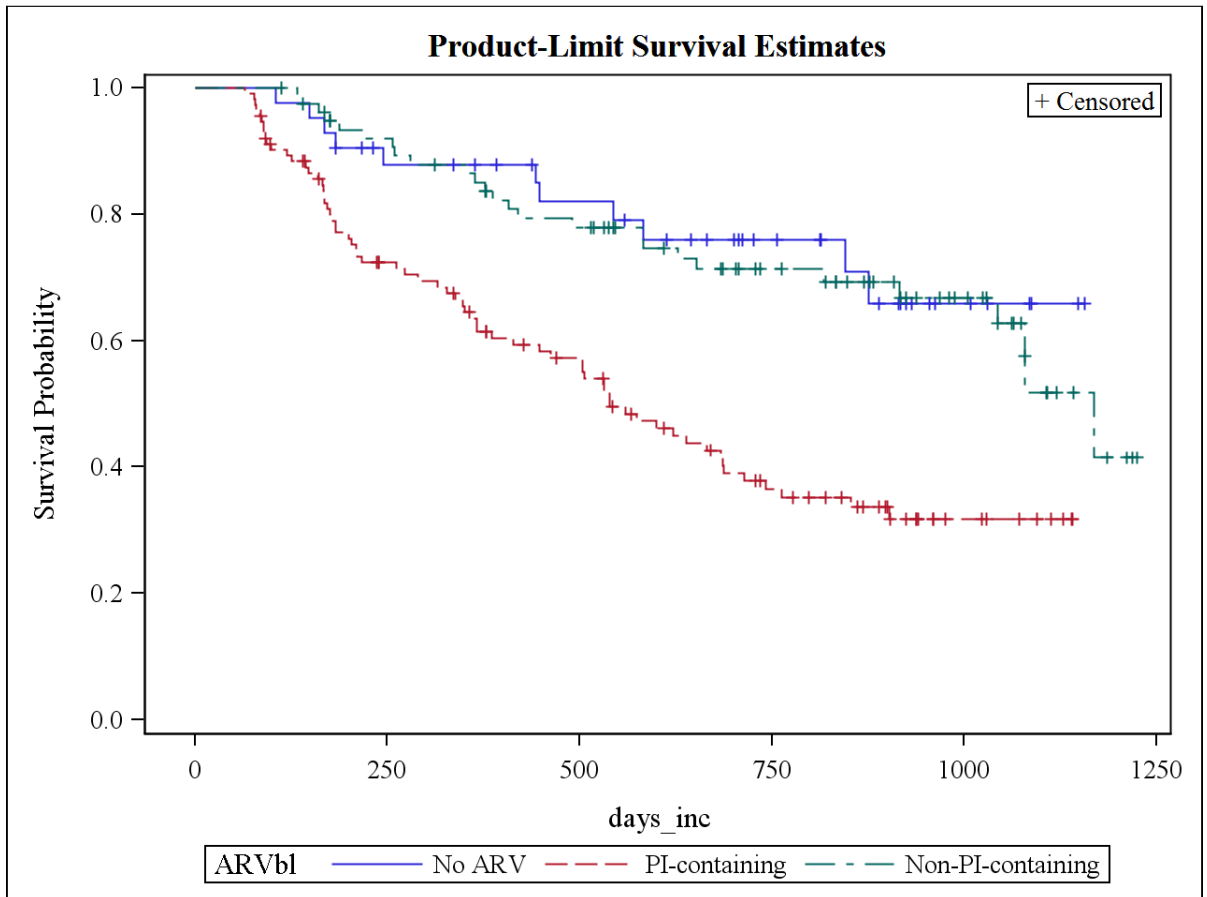
**Kaplan-Meier plot**





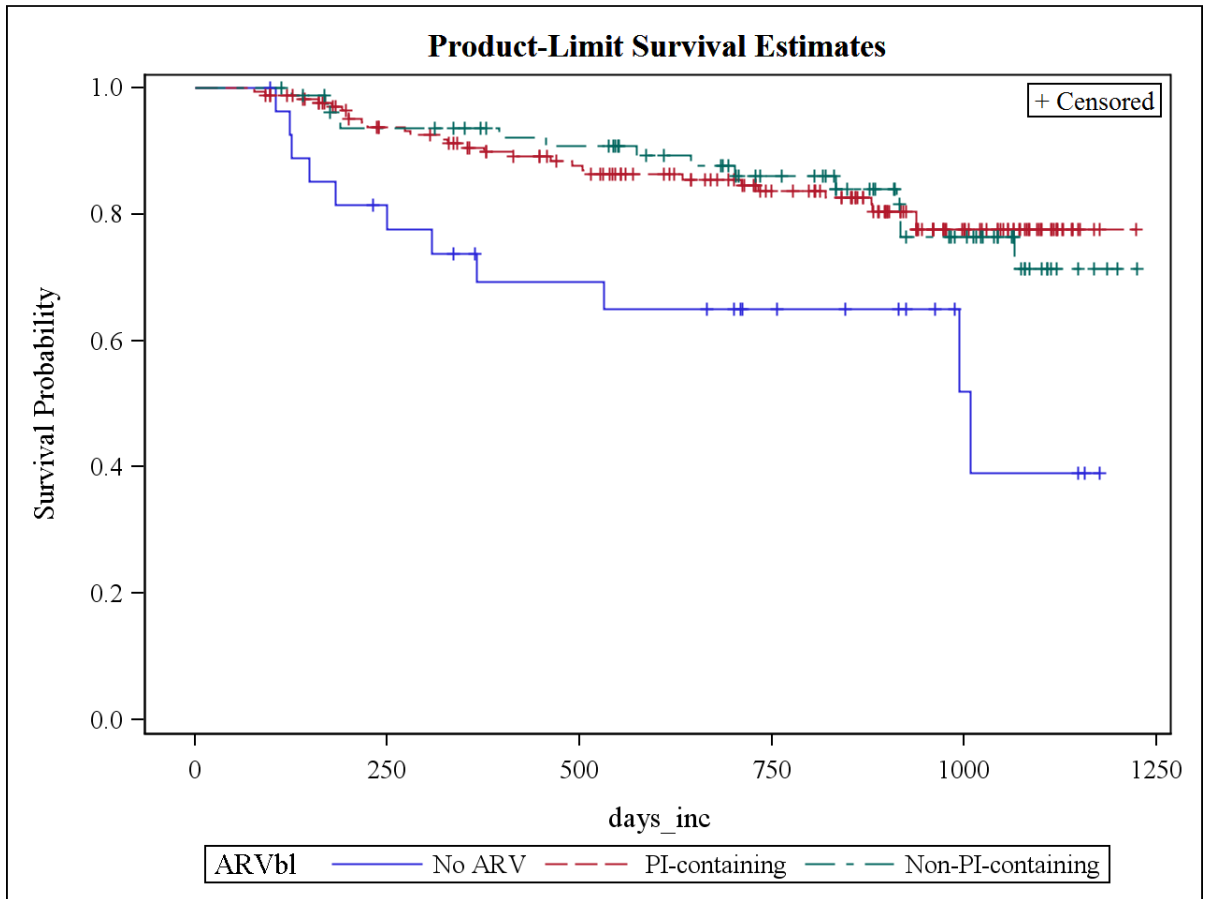
## Hypertriglyceridemia

### Kaplan-Meier plot



## Abnormal HDL

### Kaplan-Meier plot



## Abnormal LDL

### Kaplan-Meier plot

