

Filomena Marafon

**SISTEMA PURINÉRGICO E PERFIL OXIDATIVO EM
PACIENTES SOROPOSITIVOS PARA O HIV-1 EM RESPOSTA
A SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA D**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Farmácia.

Orientador: Prof.º Dr.º Celso Spada

Coorientadora: Prof.ª Dr.ª Margarete Dulce Bagatini

Florianópolis
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Marafon, Filomena

Sistema purinérgico e perfil oxidativo em
pacientes soropositivos para o HIV-1 em resposta a
suplementação de vitamina D / Filomena Marafon ;
orientador, Celso Spada, coorientador, Margarete
Dulce Bagatini, 2018.

105 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde,
Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Florianópolis,
2018.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. HIV. 3. Vitamina D. 4.
Sinalização purinérgica. 5. Estresse oxidativo. I.
Spada, Celso. II. Bagatini, Margarete Dulce. III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Farmácia. IV. Título.

“Sistema purinérgico e perfil oxidativo em pacientes soropositivos para o HIV-1 em resposta a suplementação de vitamina D”

POR


Filomena Marafon

Dissertação julgada e aprovada em sua forma final pelo(a) Orientador(a) e membros da Banca Examinadora, composta pelos Professores Doutores:

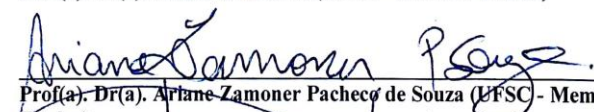
Banca Examinadora:



Prof(a). Dr(a). Margarete Dulce Bagatini (UFFS – coorientadora)




Prof(a). Dr(a). Fernanda Hansen (UFSC – Membro Titular)



Prof(a). Dr(a). Arlane Zamoner Pacheco de Souza (UFSC - Membro Titular)



Prof(a). Dr(a). Celso Spada (UFSC – Orientador(a))



Prof(a). Dra. Tânia Beatriz Creczynski Pasa
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Farmácia da
UFSC

Florianópolis, 02 de março de 2018.

Dedico este trabalho aos meus avós, nona Dozolina e nono Olivio, que sempre demonstraram seu amor e apoio incondicional, mas que subitamente viraram anjos no decorrer dessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por guiar-me sempre pelos árduos caminhos sem nunca deixar cair, iluminando as escolhas e me sustentando em suas mãos, sendo o meu amparo e refúgio, onde minha alma encontra esperança, a calma e a paz.

Aos meus pais Jacinto e Silvana, que compreendem a base de tudo e meu ponto de abrigo, que estão presentes nas alegrias e que me apoiam nos difíceis momentos com força, confiança e amor, ensinando-me a persistir e ajudando a alcançar meus objetivos.

A minha querida irmã Fernanda, pela companhia, ajuda, compreensão, risadas (das nossas piadas), pelo carinho e amor!

A toda a minha família que sempre ajudou de todas as formas possíveis, apoiando os meus sonhos e torcendo por mim.

Ao meu namorado Claudinei, por estar sempre ao meu lado, apoiando minhas decisões, me incentivando, compreendendo os momentos de exaustão e estresse, me fazendo sorrir, obrigado pelo carinho e amor.

Ao meu orientador Celso Spada, por ter me aceitado como orientanda, pelas cobranças, exigências, dinamismo, confiança, pelos seus conhecimentos e por acreditar nesse trabalho.

A minha coorientadora e grande amiga Margarete pelo acompanhamento deste trabalho, pelas ideias, sugestões, pela tranquilidade e prestatividade ao sanar minhas dúvidas, por tudo! Um grande exemplo de pesquisadora e mulher a ser seguido!

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) pelas contribuições.

Ao corpo docente e servidores do Programa de Pós-Graduação em Farmácia (PGFAR-UFSC), pelas excelentes vivências compartilhadas em cada aula, por todo o ensino e contribuição em minha formação acadêmica e pessoal.

A toda equipe de saúde e dirigentes do Complexo Prisional de Chapecó, que aderiram a esta pesquisa, ajudando a contatar os pacientes, auxiliando as coletas, me acompanhando na administração da vitamina, sendo sempre prestativos e entusiasmados na elaboração de estratégias de saúde e readaptação social para os indivíduos privados de liberdade.

A equipe do Hospital DIA, em especial a Enfermeira Liliane, que aderiram e contribuíram com esta pesquisa.

As colegas e amigos do grupo de Pesquisa “Estudos Biológicos e Clínicos em Patologias Humanas”, em especial a Aline, Beatriz,

Alessandra, Felipe e Prof^a Sarah, que auxiliaram na realização dos procedimentos laboratoriais.

A todos os meus colegas e amigos da CLAB-CH, agradeço pelo convívio, pela amizade, pelo auxílio no trabalho, pela compreensão e por me permitirem ser digna de suas amizades.

A todos os meus amigos e amigas pela compreensão e amizade.

Aos membros da banca examinadora da qualificação e de defesa, pelas pertinentes contribuições, as quais melhoraram significativamente a qualidade deste trabalho.

Aos indivíduos que aceitaram participar desta pesquisa, que confiaram e acreditaram na mesma, e que me ensinaram uma nova percepção do ser humano, e ampliaram meus conceitos de dignidade, conversão e liberdade.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a elaboração e sucesso desse trabalho.

Muito Obrigado!

RESUMO

A AIDS é uma doença crônica infectocontagiosa, representando um grave problema de saúde pública, principalmente em populações de risco como os indivíduos privados de liberdade. Essa doença está relacionada com inúmeras alterações bioquímicas e imunológicas, como é o caso do estresse oxidativo e alterações na sinalização purinérgica, ocasionando um pior prognóstico aos pacientes. Neste contexto, a VD compreende um micronutriente com potencial modulador para os indivíduos HIV soropositivos. Objetiva-se com o presente estudo verificar a presença de hipovitaminose, a restauração das concentrações de VD e avaliar os componentes do sistema purinérgico, perfil bioquímico e perfil oxidativo em uma população privada de liberdade residente no Oeste do Estado de SC submetidos à suplementação com VD. A metodologia proposta inclui a condução de estudo de intervenção com grupo teste constituído de indivíduos HIV soropositivos privados de liberdade e grupo controle saudável HIV soronegativo privados de liberdade, onde os indivíduos foram avaliados no início e ao final da suplementação com a VD, com posologia de 5.000 UI uma vez por semana totalizando 9, utilizando-se de formulário e análises laboratoriais, que incluíram a dosagem de calcidiol (25-(OH)D), análise da atividade das ectoenzimas purinérgicas, parâmetros bioquímicos, avaliação de indicadores de espécies reativas e defesas antioxidantes. Foram analisados 11 indivíduos HIV soropositivos e 11 indivíduos controles recrutados no Complexo Prisional, onde a prevalência de HIV representou 1,3% da população prisional. Os parâmetros verificados indicaram uma restauração das concentrações de VD após o período de suplementação, com valores significativos no grupo teste ($p < 0,05$), observou-se diminuição da atividade da ecto-5'-nucleotidase e uma tendência ao aumento da atividade da NTPDase com maior hidrólise do ADP após a suplementação. Verificou-se um aumento das concentrações de vitamina C significativo no grupo HIV ($p < 0,05$), e uma diminuição das concentrações de glicose nos grupos teste e controle ($p < 0,05$ e $p < 0,01$; respectivamente). Não houve diferenças significativas quanto as contagens de células CD4+ e CD8+. Os resultados verificados indicam uma associação da VD com a modulação da sinalização purinérgica, diminuindo a atividade de ectoenzimas importantes para o controle da infecção ocasionada pelo HIV, além de uma possível associação desse micronutriente com uma maior secreção de insulina devido à diminuição das concentrações de glicose.

Palavras-chaves: HIV; Vitamina D; Sinalização purinérgica; Estresse oxidativo.

ABSTRACT

AIDS is a chronic infectious disease, representing a serious public health problem, especially in the risks of individuals being deprived of their liberty. This disease is related to numerous biochemical and immunological alterations, as is the case of oxidative stress and alterations in purinergic signaling, causing a worse prognosis to patients. In this context, vitamin D (VD) comprises a micronutrient with modulatory potential for seropositive HIV individuals. The objective of the present study was to verify the presence of hypovitaminosis, to restore VD concentrations and to evaluate the components of the purinergic system, biochemical profile and oxidative profile in a population deprived of liberty residing in the West of Santa Catarina (SC), submitted to supplementation with VD. The proposed methodology includes conducting an intervention study with a test group consisting of HIV seropositive individuals deprived of liberty and a HIV seronegative control group deprived of liberty, where the subjects were measured at the beginning and at the end of the supplementation with the VD with 5,000 IU once a week totalizing 9 dosages, using form and laboratory tests, which included the dosage of calcidiol (25- (OH) D), analysis of the activity of purinergic ectoenzymes, biochemical parameters, measurement of reactive species indicators and antioxidant defenses. Eleven HIV-positive individuals and 11 control individuals recruited in the Prison Complex were analyzed, where HIV prevalence represented 1.3% of the prison population. The observed parameters indicated a restoration of RV concentrations after the supplementation period, with significant values in the test group ($p < 0.05$), a decrease in ecto-5'-nucleotidase activity and a tendency to increased activity of NTPDase with higher hydrolysis of ADP after supplementation. There was a significant increase in vitamin C concentrations in the HIV group ($p < 0.05$), and a decrease in glucose concentrations in the test and control groups ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively). There were no significant differences in CD4 + and CD8 + cell counts. The results showed an association of the RV with the modulation of purinergic signaling, reducing the activity of ectoenzymes important for the control of the infection caused by HIV, besides a possible association of this micronutrient with a greater insulin secretion due to the decrease of the glucose concentrations.

Key-words: HIV; D vitamin; Purinergic signaling; Oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura do HIV.....	31
Figura 2 – Ciclo de vida do HIV	32
Figura 3 – Síntese da vitamina D	39
Figura 4 – Componentes do sistema purinérgico	46
Figura 5 – Desenho experimental.....	56

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Concentrações de vitamina D antes e após o período de suplementação, nos grupos controle e soropositivo	69
Gráfico 2 – Hidrólise de AMP em linfócitos e plaquetas antes e após a suplementação com vitamina D, nos grupos controle e soropositivo....	70
Gráfico 3 – Hidrólise de ADP e ATP em linfócitos antes e após a suplementação com vitamina D, nos grupos controle e soropositivo....	71
Gráfico 4 – Hidrólise de ADP e ATP em plaquetas antes e após a suplementação com vitamina D, nos grupos controle e soropositivo....	72
Gráfico 5 – Hidrólise de ADA em linfócitos e plaquetas antes e após a suplementação com vitamina D, nos grupos controle e soropositivo....	73
Gráfico 6 – Concentrações de vitamina C antes e após a suplementação com vitamina D, nos grupos controle e soropositivo	75
Gráfico 7 – Concentrações de glicose antes e após a suplementação com vitamina D, nos grupos controle e soropositivo	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Perfil epidemiológico dos indivíduos HIV soropositivos do Complexo Prisional de Chapecó/SC	68
Tabela 2 – Evolução do percentual de vitamina D em relação a suplementação vitamínica	69
Tabela 3 – Parâmetros de perfil oxidativo em pacientes soropositivos antes e após a suplementação com vitamina D	74
Tabela 4 – Concentrações médias dos parâmetros bioquímicos analisados nos grupos controle e soropositivo, antes e após a suplementação com vitamina D.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1,25-(OH) ₂ D	Calcitriol
1/2 O ₂	Oxigênio simples
25-(OH)D	Calcidiol
7-DHC	7-Deidrocolesterol
A_C	Antes da suplementação, grupo controle
A_S	Antes da suplementação, grupo soropositivo
AAP	Aminoantipirina
ADA	Adenosina desaminase
ADO	Adenosina
ADP	Difosfato de adenosina
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida, do inglês <i>Acquired immunodeficiency syndrome</i>
ALT/TGP	Alanina aminotransferase
ANOVA	Análise de variância
AMP	Monofosfato de adenosina
AST/TGO	Aspartato aminotransferase
ATP	Trifosfato de adenosina
AZT	Azidotimidina
BHT	Di-terc-butil metil fenol
CaCl ₂	Cloreto de cálcio
CAT	Catalase
CCR5	C-C receptor de quimiocina tipo 05
CD39	E-NTPDase
CD73	Ecto-5'-nucleotidase
CDC	Centro de controle de doenças, do inglês <i>Center for disease control</i>
Células NK	Células <i>natural killer</i>
CXCR4	C-X-C receptor de quimiocina tipo 04
D2	Ergocalciferol
D3	Colecalciferol
DEPEN	Departamento Penitenciário
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNPH	2,4 Dinitrofenilhidrazina
DTNB	2,2'-dinitro-5,5'-ditiodibenzoico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
E-NPP	Ecto-nucleotídeo pirofosfatase/fosfodiesterase
E-NTPDase	Ecto-nucleosídeo trifosfato difosfohidrolases
ERN	Espécies reativas de nitrogênio

ERO	Espécies reativas de oxigênio
ES	Sociedade de Endocrinologia Americana, do inglês <i>Endocrine Society</i>
EUA	Estados Unidos da América
FC	Fator de correção
FCF	Fator de correção do fosfato
GPx	Glutathione peroxidase
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HAART	Terapia antirretroviral de alta atividade, do inglês <i>highly activity antirretroviral therapy</i>
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HOCl	Ácido hipocloroso
HTLV-1	Vírus linfotrópico da célula T humana tipo 01
I.C	Intervalo de confiança
Infopen/I-Pen	Sistema de informações estatísticas do sistema Penitenciário
IOM	Instituto de Medicina Norte Americano do inglês <i>Institute of Medicine</i>
IST	Infecções sexualmente transmissível
KCl	Cloreto de potássio
LAV	Vírus relacionado à linfadenopatia, do inglês <i>Lymphadenopathy associated virus</i>
LPO	Lipoperoxidação
MDA	Malondialdeído
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
MPO	Mieloperoxidase
NaCl	Cloreto de sódio
NPSH	Tióis não protéicos
NTPDase	Ecto-nucleosideo trifosfato difosfoidrolases
NTPDase-1	Ecto-nucleosideo trifosfato difosfoidrolases do tipo 01
O ₂ [·]	Superóxido
OH	Hidroxila
OMS	Organização Mundial de Saúde, do inglês WHO
PNAISP	Política Nacional de Atenção Integral à Saúde das Pessoas Privadas de Liberdade no Sistema Prisional
PTH	Paratormônio
QMIA	Técnica de imunensaio quimioluminescente de micropartículas
RNA	Ácido ribonucleico

RP1	Receptores P1
RP2	Receptores P2
SBEM	Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia
SBPC/ML	Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial
SC	Santa Catarina
SDS	Lauril sulfato de sódio
SH	Sulfidril
SINAN	Sistema Nacional de Agravos de Notificação
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
SOD	Superóxido dismutase
SUS	Sistema Único de Saúde
T CD4+	Linfócitos T auxiliares
T CD8+	Linfócitos T citotóxicos
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TKF	Tampão fosfato de potássio monobásico e dibásico
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa
Treg	Linfócitos T regulatório
Tris-HCL	Tris-hidroclorato
UNAIDS	Programa das Nações Unidas para AIDS
UV	Raios ultravioletas
UVB	Raios ultravioletas do tipo B
VD	Vitamina D

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	27
2. REFERENCIAL TEÓRICO	29
2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS – HIV E AIDS.....	29
2.1.1. Definições e contexto histórico	29
2.1.2. Virologia do HIV	30
2.1.3. Epidemiologia	32
2.1.4. Mecanismos de transmissão	33
2.1.5. Aspectos clínicos e diagnóstico	33
2.1.6. Prevenção e tratamento	34
2.2. CONSIDERAÇÕES GERAIS – SISTEMA PRISIONAL.....	36
2.2.1. Saúde e Sistema Prisional	36
2.2.2. Contextualização da Situação Prisional Brasileira.....	36
2.2.3. Saúde e Sistema Prisional – Legislação Brasileira	37
2.2.4. Sistema Prisional e o HIV	37
2.3. CONSIDERAÇÕES GERAIS – VITAMINA D	38
2.3.1. Definições e síntese	38
2.3.2. Funções biológicas	40
2.3.3. Hipervitaminose e hipovitaminose D.....	40
2.4. CONSIDERAÇÕES GERAIS – SISTEMA PURINÉRGICO.....	42
2.4.1. Definições e contexto histórico	42
2.4.2. Nucleotídeos de adenina e nucleosídeo adenosina	43
2.4.2.1. ATP	43
2.4.2.2. Adenosina (ADO)	44
2.4.3. Receptores P1 e P2	44
2.4.3.1. Receptor P1 (RP1).....	44
2.4.3.2. Receptor P2 (RP2).....	455
2.4.4. Ectoenzimas	46

2.4.4.1. Ectonucleotidases.....	46
2.4.4.2. Adenosina desaminase (ADA).....	47
2.5. CONSIDERAÇÕES GERAIS – ESTRESSE OXIDATIVO.....	47
2.5.1. Definições – Estresse Oxidativo	47
2.5.2. Espécies reativas de oxigênio (ERO)	48
2.5.3. Defesa antioxidante	49
2.6. CORRELAÇÃO HIV, VITAMINA D, SISTEMA PURINÉRGICO E ESTRESSE OXIDATIVO.....	50
3. OBJETIVOS.....	53
3.1. OBJETIVO GERAL	53
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	53
4. METODOLOGIA	55
4.1. CASUÍSTICA.....	55
4.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	56
4.3. AUTORIZAÇÕES E COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS	57
4.4. SUPLEMENTAÇÃO VITAMÍNICA.....	57
4.5. ANÁLISE DE DADOS	57
4.5.1. Formulário de pesquisa	58
4.5.2. Avaliação do prontuário	58
4.6. ANÁLISE LABORATORIAL	58
4.6.1. Coleta e processamento do material biológico.....	58
4.6.1.1. Protocolo de separação de soro, plasma e sangue total com citrato	59
4.6.1.2. Protocolo de separação dos linfócitos	59
4.6.1.3 Protocolo de separação das plaquetas	60
4.6.2. Dosagem de vitamina D	60
4.6.3 Contagem diferencial de linfócitos T CD4+ e CD8+	60
4.6.4. Avaliação do sistema purinérgico	61

4.6.4.1. Avaliação da enzima ecto-5'-nucleotidase e NTPDase em plaquetas.....	61
4.6.4.2 Adenosina desaminase em plaquetas.....	62
4.6.4.3. Avaliação da enzima ecto-5'-nucleotidase e NTPDase em linfócitos.....	62
4.6.4.4. Adenosina desaminase em linfócitos.....	63
4.6.5. Avaliação do Perfil Oxidativo	63
4.6.5.1. TBARS	63
4.6.5.2 Tióis proteicos e não-proteicos (NPSH).....	64
4.6.5.3. Mieloperoxidase (MPO).....	64
4.6.5.4. Conteúdo de ácido ascórbico.....	65
4.6.6. Avaliação do Perfil Bioquímico	65
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	65
5. RESULTADOS	67
5.1. PERFIL EPIDEMIOLÓGICO	67
5.2. CONCENTRAÇÕES DE VITAMINA D.....	68
5.3. CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4+ E CD8+	69
5.4. SISTEMA PURINÉRGICO.....	70
5.5. PERFIL OXIDATIVO	73
5.6. DOSAGENS BIOQUÍMICAS	75
6. DISCUSSÃO	79
7. CONCLUSÕES	85
REFERÊNCIAS	87
APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). 99	
APÊNDICE B – Formulário de pesquisa	104

1. INTRODUÇÃO

O HIV é um retrovírus pertencente ao gênero dos Lentivírus, o qual foi isolado em 1982 por Françoise Barré-Sinoussi e Luc Montagnier (BARRÉ-SINOUSSE, et al., 1983). Esse vírus caracteriza-se por acometer o sistema imunológico em decorrência de sua ligação aos tipos celulares que contém o receptor de superfície CD4+, que incluem os linfócitos T CD4+, macrófagos e células dendríticas. A ligação a célula-alvo desencadeia as etapas subsequentes do ciclo de vida viral, que culminam com a destruição celular progressiva (BARRÉ-SINOUSSE; ROSS; DELFRAISSY, 2013; MAARTENS; CELUM; LEWIN, 2014).

A depleção das células ocasiona uma resposta deficiente frente a outras doenças e infecções, podendo levar ao desenvolvimento da AIDS, que é uma doença crônica infectocontagiosa com características de imunossupressão profunda associada a reativação de doenças latentes, presença de infecções oportunistas, tumores malignos, perda de peso e degeneração do sistema nervoso central (SNC) (MONTAGNIER, 2009; BARRÉ-SINOUSSE, 2010).

O HIV compreende um grave problema de saúde pública, acometendo cerca de 36,7 milhões de pessoas no mundo (WHO, 2015). A presença de componentes imunológicos na fisiopatologia do HIV sugere que imunomoduladores endógenos poderiam ter um forte impacto sobre esta infecção. Neste contexto, a VD constitui-se em um potencial candidato para pesquisas.

A VD compreende um pré-hormônio esteroide com 80-90% de síntese endógena pelo estímulo da radiação UVB. Este micronutriente se apresenta sobre as formas de ergocalciferol (D2) e colecalciferol (D3) (AZIZ et al., 2013; MAEDA et al., 2014). Quadros de hipovitaminose D são caracterizados por concentrações de calcidiol abaixo de 20 ng/mL (SBEM, 2017).

Nos últimos anos, um número crescente de estudos tem relatado altas taxas de prevalência de deficiência de VD em pacientes infectados pelo HIV. A relevância desta alta prevalência de hipovitaminose nestes pacientes está relacionada ao fato de que a VD, além de ser um agente atuante na doença óssea, também está associada a condições não esqueléticas, incluindo atuação cardiovascular, regulação imune, no câncer e nos distúrbios cognitivos, conseqüentemente, sua deficiência representa um pior prognóstico ao paciente e está associada ao desenvolvimento de doenças (AGUILAR-JIMÉNEZ et al., 2013; AZIZ et al., 2013; LERMA-CHIPPIRAZ et al., 2016).

O sistema de sinalização purinérgica foi descrito em 1972 por Burnstock, e constitui-se dos nucleotídeos ATP, ADP e AMP, e nucleosídeo adenosina, os quais se ligam a receptores do grupo P1 e P2 para exercer sua atividade biológica extracelular, e tem sua função regulada por ectoenzimas, entre as quais cita-se as ectonucleotidases (BURNSTOCK, 1972; 2006). Esse sistema compreende uma rede de sinalização celular, representando uma importante via moduladora de inúmeros processos fisiológicos, como modulação da resposta inflamatória e imunológica (BURNSTOCK, 2006a). Relata-se uma relação das ectoenzimas purinérgicas como componentes que auxiliam no bloqueio de progressão da doença ocasionada pelo HIV e melhora da resposta imune. Devido aos poucos trabalhos na literatura, torna-se relevante pesquisar e elucidar a função destes componentes sinalizadores na patologia ocasionada pelo HIV-1, buscando o entendimento e conhecimento de suas funções (LEAL et al., 2005).

O estresse oxidativo é definido como um estado de desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e a capacidade antioxidante, onde se têm uma produção exacerbada destas moléculas reativas e/ou uma falha das defesas antioxidantes ocasionando danos oxidativos às biomoléculas (SIES, 1985)

A infecção ocasionada pelo HIV-1 tem apresentado um prognóstico de desenvolvimento do estresse oxidativo em muitos dos pacientes soropositivos, este quadro ocorre em decorrência do fato de que as infecções virais promovem uma prolongada ativação do sistema imunológico e conseqüentemente, contribuem para o aumento da produção de ERO. Outro fator que atua como contribuinte neste processo é a utilização da HAART, pois a mesma é constituída de fármacos com diversos efeitos adversos e que promovem alterações metabólicas. O HIV-1 também está relacionado à diminuição das defesas antioxidantes através da redução da atividade de SOD, CAT e GPx no plasma (WATANABE et al., 2015; IVANOV et al., 2016).

Considerando a infecção ocasionada pelo HIV e o desenvolvimento da patologia da AIDS como um grave e preocupante problema de saúde pública, torna-se necessário e importante pesquisar as alterações bioquímicas e imunológicas, onde pode-se citar o perfil oxidativo e avaliação de componentes do sistema purinérgico, nos indivíduos infectados e buscar possibilidades terapêuticas coadjuvantes, que permitam uma melhor modulação das respostas como a VD, proporcionando a estes indivíduos uma melhora na qualidade de vida e impactos na mortalidade ocasionada por essa doença.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS – HIV E AIDS

2.1.1. Definições e contexto histórico

Define-se “imunidade” como a característica de resistência às doenças, principalmente aquelas infecciosas, sendo esta mediada por um conjunto de células, tecidos e moléculas, o qual é denominado “sistema imunológico”. O sistema imunológico que apresenta falhas no seu desenvolvimento ou em suas funções torna o organismo mais suscetível à aquisição de novas infecções e a reativação daquelas em estado de latência. Estes distúrbios são denominados “doenças de imunodeficiência”, as quais podem estar associadas a fatores genéticos sendo chamadas de imunodeficiências congênitas (primárias), ou associadas a uma diversidade de fatores que exclui o componente genético e nestes casos são denominadas imunodeficiências adquiridas (secundárias). Entre as imunodeficiências adquiridas, a de maior destaque é representada pela infecção ocasionada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) (ABBAS; LICHTMAN, ANDREW H. PILLAI, 2008; ABBAS; LICHTMAN, 2009).

O primeiro relato de paciente com sintomatologia da imunodeficiência adquirida foi realizado por médicos americanos no Centro de Controle de Doenças (CDC, do inglês *Center for disease control*) em junho de 1981, relatando a ocorrência, em um paciente imunocomprometido, de uma rara infecção ocasionada pelo fungo *Pneumocystis carinii* e presença de Sarcoma de Kaposi (CDC, 1981), sequencialmente a este primeiro relato, surgiu a descrição de relatórios com casos semelhantes na Europa Ocidental, particularmente na França, e nos Estados Unidos da América (EUA) (MONTAGNIER, 2009).

O HIV foi isolado no ano de 1982 no Instituto Pauster (França), inicialmente foi denominado de “vírus relacionado à linfadenopatia” (LAV, do inglês *lymphadenopathy associated virus*) (BARRÉ-SINOSSI, 2010). O isolamento foi realizado pelo grupo de pesquisas coordenado por Françoise Barré-Sinoussi e Luc Montagnier, a partir do cultivo celular de uma amostra de linfonodo de paciente caucasiano que apresentava sintomatologia (linfadenopatia cervical, astenia, perda de peso e febre) que precedia a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS, do inglês *Acquired immunodeficiency syndrome*), onde os pesquisadores observaram uma morte celular associada a atividade da enzima denominada transcriptase reversa viral, observando também a

transmissão do vírus para linfócitos do sangue de doador adulto saudável e de um cordão umbilical, os quais foram adicionados ao cultivo celular, indicando a capacidade de transmissão horizontal de infecção pelo vírus (BARRÉ-SINOUSSE, et al., 1983; MONTAGNIER, 2009).

Os resultados desse estudo foram publicados em maio de 1983, sendo que o primeiro relato do retrovírus também incluía uma descrição da proteína viral p25 e a determinação de ausência de reatividade cruzada com proteínas do vírus linfotrópico da célula T humana tipo 1 (HTLV-1), observada pela não precipitação das proteínas utilizando o antissoro específico, indicando assim a descoberta de um novo vírus (BARRÉ-SINOUSSE, 2010; MONTAGNIER, 2009). Em 1984 os pesquisadores do Instituto de Pauster desenvolveram o primeiro teste sorológico de diagnóstico (BARRÉ-SINOUSSE, 2010; BARRÉ-SINOUSSE et al., 1983).

2.1.2. Virologia do HIV

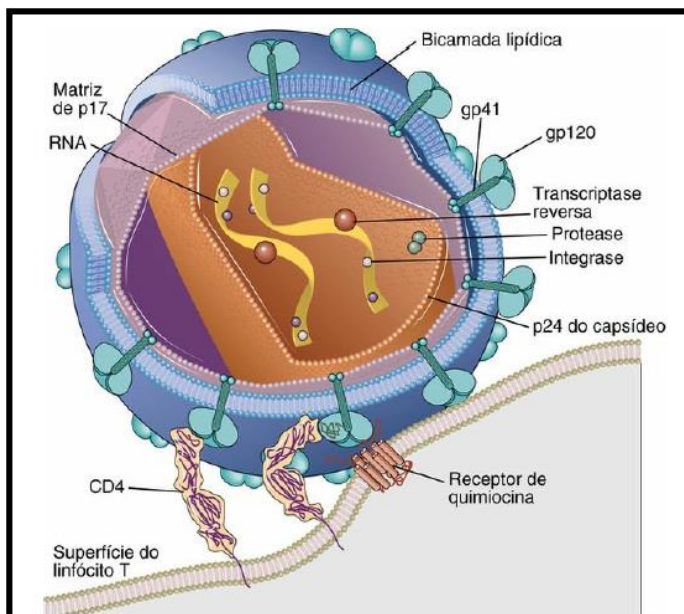
O vírus HIV age atacando o sistema imunológico do organismo infectado e destruindo progressivamente células de defesa, principalmente os linfócitos T CD4+, o vírus também infecta macrófagos e células dendríticas, que possuem esse receptor de superfície. Estas células-alvos estão associadas à resposta imunológica inata e adaptativa frente a diversos patógenos, sendo que a depleção das mesmas ocasiona uma resposta deficiente frente a outras doenças e infecções (BARRÉ-SINOUSSE; ROSS; MAARTENS; CELUM; LEWIN, 2014; DELFRAISSY, 2013; DEEKS et al., 2015).

Este retrovírus é representado pelos subtipos 1 e 2, o HIV-1 é amplamente distribuído pelo mundo, enquanto o HIV-2, encontra-se restrito a algumas regiões geográficas em desenvolvimento e apresenta-se menos virulento, além de ser caracterizado por ter um período de incubação mais longo (NANJUL, 2011).

O HIV pertencente ao gênero dos *Lentivírus* e a família *Retroviridae*, com dimensões entre 80 e 130 nm, têm a estrutura viral constituída de duas fitas idênticas de material genômico de RNA e enzimas associadas, que incluem a transcriptase reversa, integrase e protease, envoltas pelo capsídeo viral, o qual é composto pela proteína p24. A parte externa do vírus é constituída por uma bicamada fosfolipídica derivada da membrana das células do hospedeiro, ao qual encontram-se ligadas as glicoproteínas de membrana gp41 e gp120, entre a camada externa e o capsídeo viral encontra-se a matriz proteica composta pela proteína p17. Essas estruturas podem ser observadas na

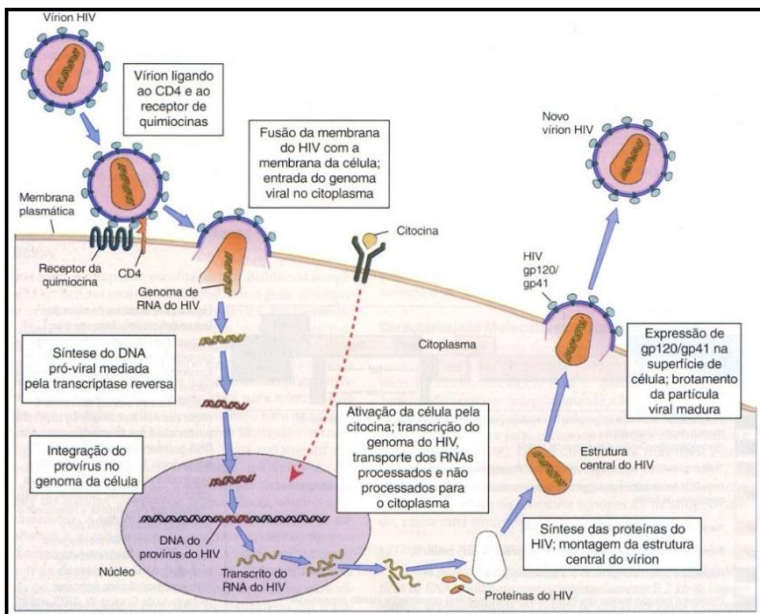
figura 01 (MOSS, 2013; MAARTENS; CELUM; LEWIN, 2014; DEEKS et al., 2015).

Figura 1 – Estrutura do HIV



Fonte: Adaptado de Abbas, Lichtman e Pillai, 2015.

O ciclo de vida deste vírus compreende a infecção das células-alvos, produção de material genômico e sua integração no genoma do hospedeiro, a expressão destes genes e a produção de partículas virais, conforme figura 02. Para realizar a ligação com a célula alvo, o vírus requer a presença do receptor de superfície CD4 e de receptores de quimiocinas (o CXCR4 nas células T e o CCR5 nos macrófagos), a ligação com esses receptores é iniciada pela gp120, promovendo uma alteração na conformação da gp41 e exposição do peptídeo de fusão, ocorrendo sequencialmente a fusão das membranas, entrada do genoma viral no citoplasma, transcrição genômica em DNA pró-viral, integração do pró-vírus ao material genético da célula hospedeira, transcrição do genoma do vírus e síntese proteica de proteínas do HIV. As partículas virais sintetizadas compreendem transcritos de RNA proviral em um complexo de nucleoproteínas, as quais brotam em novo vírion e são necessárias para infectar outras células (DEEKS et al., 2015).

Figura 2 – Ciclo de vida do HIV

Fonte: Adaptado de Abbas, Lichtman e Pillai, 2015.

Os pacientes HIV soropositivos podem desenvolver a síndrome denominada AIDS, a qual compreende uma doença crônica infectocontagiosa caracterizada em nível biológico por uma imunossupressão celular profunda associada clinicamente ao ressurgimento de infecções oportunistas e tumores malignos, além de perda de peso e degeneração do sistema nervoso central (SNC) (MONTAGNIER, 2009; BARRÉ-SINOUSI; ROSS; DELFRAISSY, 2013; MAARTENS; CELUM; LEWIN, 2014).

2.1.3. Epidemiologia

Conforme dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) estima-se que aproximadamente 36,7 milhões de pessoas estejam vivendo com HIV em todo mundo (WHO, 2015). O relatório da UNAIDS indicou que foram diagnosticados 1,8 milhões de novas infecções no ano de 2016, sendo que as mortes relacionadas à AIDS no mesmo ano atingiram a marca de 1,0 milhão de pessoas, número este que está em queda desde 2005. O relatório também indicou que 53% dos indivíduos vivendo com o HIV encontram-se em tratamento antirretroviral e 82% das pessoas em

tratamento apresentam carga viral suprimida. Outro indicativo compreende que as populações de maior exposição a fatores de risco representaram 80% das novas infecções em 2015, entre as quais encontram-se os indivíduos privados de liberdade (UNAIDS, 2017).

No Brasil estima-se 830 mil pessoas vivendo com o HIV, sendo que no ano de 2016 foram diagnosticadas 48 mil novas infecções e o número de mortes relacionadas foi de 14 mil. A taxa de prevalência da infecção ocasionada pelo HIV no país na população em geral é de 0,39%. Os números também indicam que 64% das pessoas com o vírus recebem o tratamento antirretroviral (UNAIDS, 2017). Os dados indicaram que no período de 2007 até junho de 2016 foram notificados 136.945 casos da infecção no Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN), com maior prevalência na população entre 20 e 34 anos (52,3%). A região sul representou 28.879 (21,1%) destes casos (BRASIL, 2015, 2016).

2.1.4. Mecanismos de transmissão

A transmissão do vírus está associada a sua concentração nos fluidos corporais e a extensão da exposição a estes fluidos (NANJUL, 2011). Assim, a transmissibilidade da infecção pelo HIV é representada pelo contato com os fluidos biológicos de sangue, sêmen, fluidos cervico-vaginais ou leite materno contendo as partículas virais, tipicamente o vírus entra no organismo pelo epitélio das mucosas (LASHLEY, 2006). O vírus também está presente em quantidades muito baixas na saliva, lágrimas, urina e líquido cefalorraquidiano, fazendo destes fluidos veículos não transmissores do HIV (NANJUL, 2011).

Desta forma as principais vias de transmissão do vírus incluem o contato sexual anal e vaginal desprotegido, compartilhamento de agulhas contaminadas por usuários de drogas intravenosas, transferência transplacentária (*in utero*) ou durante o parto, aleitamento materno e transfusão de sangue ou hemoderivados infectados (LASHLEY, 2006).

2.1.5. Aspectos clínicos e diagnóstico

A evolução clássica da infecção, no paciente soropositivo para o HIV compreende uma sintomatologia dividida em fases, caracterizada por uma infecção aguda inicial que avança progressivamente, tornando-se crônica. A fase aguda inicial é observada em 50 a 90% dos pacientes e ocorre de 4 a 12 semanas após infecção inicial, não apresentando sintomatologia clínica específica, onde os sintomas são comuns para outras diferentes doenças virais, e incluem febre, cefaleia, mialgia e artralgia (MOSS, 2013).

A fase assintomática é representada por quadro clínico mínimo ou

inexistente, no caso do subtipo HIV-1 esta fase pode variar de 7 a 10 anos, havendo registros de períodos maiores de incubação (NANJUL, 2011). Nesta fase têm-se a latência do vírus, que compreende o período em que a infecção ocasionada pelo HIV permanece sem apresentação de sintomatologia, nessa fase ocorre uma forte interação entre o sistema imunológico e constantes mutações virais, mantendo uma situação de equilíbrio entre vírus e hospedeiro, com replicação e morte viral equilibradas. Em seguida têm-se uma fase sintomática inicial e, posteriormente, o desenvolvimento da AIDS, a qual compreende o surgimento de infecções oportunistas e tem como principal característica a debilidade do sistema imunológico, sendo que os pacientes com depleção profunda das células T CD4+ apresentam contagens celulares abaixo de 200 células/mm³ (MAARTENS; CELUM; LEWIN, 2014; DEEKS et al., 2015).

A sintomatologia clássica da síndrome inclui diarreia persistente, cefaleia, contrações abdominais, febre, falta de coordenação, náuseas e vômitos, fadiga extrema, caquexia, perda de peso, insuficiência renal (nefropatia do HIV), degeneração do SNC (encefalopatia do HIV) e uma suscetibilidade aumentada para o surgimento de neoplasias, como o sarcoma de Kaposi, os linfomas não-Hodgkin e as neoplasias intra-epiteliais anal e cervical (NAIF, 2013; BRASIL, 2014; GURDASANI et al., 2014).

O diagnóstico dos pacientes HIV soropositivos é realizado principalmente através de análises sorológicas e triagens laboratoriais, uma vez que o quadro clínico do indivíduo pode ser inespecífico. O objetivo principal destas análises é a detecção precoce do vírus, e no caso do HIV os testes sorológicos também são empregados para avaliar o grau de progressão da infecção. Os pacientes com resultado laboratorial positivo para o vírus, após teste confirmatório, são notificados ao SINAN do Ministério da Saúde, instituído pela Portaria nº 1.271 de 2014, o que representa grande relevância para a vigilância epidemiológica, permitindo avaliar estimativas de incidência da patologia em diferentes grupos populacionais e elaborar estratégias terapêuticas e de profilaxia (BRASIL, 2014a).

2.1.6. Prevenção e tratamento

Programas de prevenção e medidas preventivas com foco no HIV e na AIDS incluem a testagem de sangue e hemoderivados nos hemocentros diminuindo o risco de transmissão através de transfusões, as campanhas de promoção do uso do preservativo que resultaram na limitação da transmissão sexual, a introdução do teste sorológico e da

terapia antirretroviral em grávidas soropositivas permitindo a diminuição da transmissão vertical, e os programas de profilaxia pré- e pós-exposição também tem apresentado resultados positivos na prevenção a infecção ocasionada pelo HIV (BARRÉ-SINOUSI, 2010; BRASIL, 2014a).

Baseada na caracterização da atividade da transcriptase reversa viral em 1985 iniciou-se a primeira abordagem terapêutica dos pacientes diagnosticados com a utilização da zidovudina ou azidotimidina (AZT), a qual foi sintetizada inicialmente como um fármaco anti-câncer. Porém a monoterapia com AZT logo registrou casos de resistência e com base nestas observações no começo da década de 1990, foi iniciada a terapia combinada a qual também é denominada de terapia antirretroviral de alta atividade (HAART, do inglês *highly activity antirretroviral therapy*) (BARRÉ-SINOUSI, 2010).

Atualmente o tratamento para AIDS busca controlar a entrada e a replicação do HIV, e manter os indivíduos infectados com carga viral baixa ou indetectável, bem como atuar nas complicações infecciosas da doença, a estratégia empregada visa manter esse vírus residual sob controle pelo sistema imunológico, através de um regime medicamentoso intermitente. Para as infecções adjacentes a doença utiliza-se terapia de suporte e profilaxia adequada. Atualmente o conjunto de fármacos da HAART atua no bloqueio das atividades da transcriptase reversa, proteases e das enzimas integrases (BARRÉ-SINOUSI; ROSS; DELFRAISSY, 2013; DEEKS et al., 2015).

A dificuldade de síntese de uma vacina eficaz contra o HIV está associada a diversos fatores, como o alto grau de variabilidade genética do mesmo, que possibilita o vírus se evadir do sistema imunológico humano. Os reservatórios virais estabelecidos precocemente e o modo de transmissão viral por contato célula a célula são também obstáculos a estas pesquisas (BARRÉ-SINOUSI, 2010; SAFRIT et al., 2016).

Em virtude disso, ainda não existe uma vacina protetora contra o vírus e as estratégias terapêuticas disponíveis não conduzem à cura. Estas minimizam os efeitos ocasionados pelo HIV com o objetivo de melhorar a qualidade de vida do paciente, mas em muitos casos, estão associadas a apresentação de efeitos adversos, além de representarem um tratamento dispendioso e de alto custo (AGUILAR-JIMÉNEZ et al., 2013). Desta forma, é essencial e imprescindível as contínuas pesquisas sobre o HIV, a promoção de medidas de prevenção para a população em geral e aos indivíduos constituintes de grupos de maior exposição ao vírus.

2.2. CONSIDERAÇÕES GERAIS – SISTEMA PRISIONAL

2.2.1. Saúde e Sistema Prisional

A situação de saúde do indivíduo privado de liberdade pode apresentar agravos devido às condições em que o mesmo se encontra, pode-se citar como exemplo destes problemas a superlotação das celas, sua precariedade e insalubridade, à alimentação restrita, o sedentarismo, uso de drogas injetáveis com compartilhamento de agulhas e seringas, o descuido com a higiene e asseio pessoal, a realização de atividade sexual consensual e não-consensual entre indivíduos do mesmo gênero, a realização de tatuagens e perfuração corporal com instrumentos improvisados e sem esterilização e o compartilhamento de materiais de tricotomia, tornam o ambiente prisional um local propício para a proliferação de doenças. Cita-se como os principais agravos desta população as doenças do sistema respiratório, como tuberculose e pneumonia, e também relata-se um maior índice de infecções sexualmente transmissíveis (IST), como hepatite B e a infecção ocasionada pelo vírus HIV (ASSIS, 2007; JÜRGENS; NOWAK; DAY, 2011; MAERRAWI; CARVALHO, 2015).

2.2.2. Contextualização da Situação Prisional Brasileira

As políticas prisionais no Brasil são coordenadas pelo Departamento Penitenciário (DEPEN). Este departamento propõe a humanização das condições carcerárias pela promoção de um modelo intersetorial de políticas públicas de saúde, educação, trabalho, cultura, esporte, assistência social e de acesso à justiça. O Infopen é um sistema de informações estatísticas do sistema penitenciário brasileiro, o mesmo é atualizado pelos gestores dos estabelecimentos prisionais desde 2004, com metodologia e instrumentos de coleta de dados reestruturados em 2014 com o intuito de suprir as esferas com informações que permitam a elaboração de políticas públicas cada vez mais adequadas para a realidade prisional. Dados do documento elaborado pelo DEPEN indicam que em junho de 2014, 607.731 indivíduos encontravam-se privados de liberdade em estabelecimentos penais brasileiros, com um total de 376.699 vagas, indicando uma taxa de ocupação de 161%, totalizando um déficit de 231.062 vagas, sendo o perfil das pessoas presas majoritariamente composto de jovens negros, de baixa escolaridade e de baixa renda (BRASIL, 2014b).

Entre os 20 países com maior número absoluto de presos o Brasil encontra-se na quarta posição, precedido de Estados Unidos, China e Rússia. Quanto à taxa de ocupação dos estabelecimentos, o Brasil

apresenta a quinta maior taxa, a qual teve um crescimento de 575% no período de 1990 a 2014. Estes fatores contribuem para a superlotação dos estabelecimentos prisionais e elevado custo, sinalizando a gravidade em que o sistema prisional brasileiro se encontra e conseqüentemente expõem um grande número de indivíduos aos agravos do aprisionamento (BRASIL, 2014b).

O Estado de Santa Catarina apresenta 46 das 1.424 unidades prisionais nacionais, e encontra-se na 8ª posição entre as Unidades Federativas referente ao número de pessoas privadas de liberdade, com um total 17.914 indivíduos nesta situação, em relação a taxa de aprisionamento para cada 100.000 habitantes, Santa Catarina encontra-se na 12ª posição com 266,3 presos. A taxa de ocupação do sistema prisional catarinense é de 132% (BRASIL, 2014b).

2.2.3. Saúde e Sistema Prisional – Legislação Brasileira

A Constituição Federal, em seu artigo 3º, inciso IV estabelece como função do estado prover o bem de todos, incluindo as pessoas privadas de liberdade (BRASIL, 1988). No ano de 2014, foi instituída a Política Nacional de Atenção Integral à Saúde das Pessoas Privadas de Liberdade no Sistema Prisional (PNAISP), através da Portaria Interministerial Nº 1, de 2 de Janeiro, elaborada pelos Ministros da Saúde e da Justiça em consideração a legislação vigente para pessoas privadas de liberdade e referente ao Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2014d).

Compreende como objetivo geral da PNAISP a garantia do acesso das pessoas privadas de liberdade no sistema prisional ao cuidado integral no SUS. Cita-se como alguns dos objetivos específicos dessa política a promoção do acesso à Rede de Atenção à Saúde, visando o cuidado integral e a qualificação e humanização dos profissionais de saúde para a realização do cuidado a esta população (BRASIL, 2014c). Em complemento a PNAISP, o Governo Federal instituiu a Portaria Nº 482, de 1º de abril de 2014, que indica normas para a operacionalização desta política, indicando o número e especialização dos profissionais de saúde que compõem a Equipe de Atenção Básica Prisional conforme o número de indivíduos em custódia e também trata sobre o incentivo financeiro para custeio das atividades de saúde (BRASIL, 2014d).

2.2.4. Sistema Prisional e o HIV

Conforme dados do DEPEN em 2014, com base no levantamento das notificações desse agravo, identificou-se a existência de 2.864 pessoas portadoras do vírus HIV no sistema prisional brasileiro. Esse total

representa 1,21% do total de presos das unidades que informaram o dado, o que equivale a uma taxa de incidência de 1.215,5 pessoas soropositivas para cada cem mil presos, proporção maior que a taxa da população brasileira total, que apresenta 20,4 indivíduos soropositivos para cada cem mil habitantes. Em SC a partir das informações de 80% das unidades prisionais (14.164 indivíduos privados de liberdade) verificou-se um número de 299 indivíduos soropositivos para o HIV, o que representa um percentual de infecção de 2,11% (BRASIL, 2014b).

Com base nos dados indicados, relata-se a importância da atuação e elaboração de políticas de saúde que permitam o conhecimento, controle e adequada gestão dos agravos de saúde dentro das unidades prisionais brasileiras.

2.3. CONSIDERAÇÕES GERAIS – VITAMINA D

2.3.1. Definições e síntese

A VD compreende um pró-hormônio esteroide (AZIZ et al., 2013; WOLF, 2004). Este micronutriente é encontrado em duas formas: o ergocalciferol (D2), que é produzido por célula vegetais e a principal fonte dietética para sua obtenção compreende os fungos comestíveis, e o colecalciferol (D3), produzido nos tecidos animais pela ação da luz ultravioleta, sendo que suas principais fontes dietéticas são representadas pelo óleo de fígado de bacalhau e pelos peixes gordurosos de água fria (salmão, atum, cavala) (MEUNIER; CHAPUY, 2005; CASTRO, 2011; MAEDA et al., 2014; PETERS; MARTINI, 2014; SHEPHERD et al., 2014).

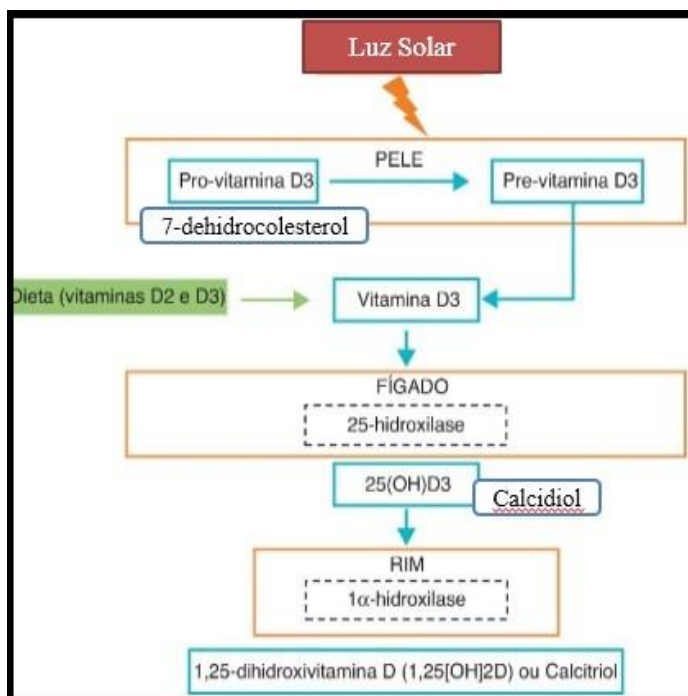
Somente 10 a 20% da VD presente no organismo é obtida de fontes exógenas, o restante (80 a 90%) é sintetizado endogenamente por síntese cutânea, transformando a pré-vitamina 7-deidrocolesterol (7-DHC) em seus metabólitos, a partir da incidência de raios ultravioletas do tipo B (UVB), que penetram na epiderme, sendo que está radiação de síntese possui comprimento de onda de 290 a 310 nm. A vitamina obtida por meio da ingestão é absorvida pelo intestino e conduzida até o fígado, e a partir deste momento tanto a forma endógena quanto a exógena apresentam o mesmo processo de síntese em metabólitos ativos (MEUNIER; CHAPUY, 2005; MAEDA et al., 2014).

No processo de síntese dessa vitamina têm-se no fígado a primeira hidroxilação dos compostos gerando a 25-(OH)D (calcidiol), que é o metabólito mais abundante e estável da VD. Em seguida, o calcidiol circulante chega aos rins onde é submetido a uma nova hidroxilação e

convertido em calcitriol (1,25-(OH)₂D), que compreende o metabólito ativo do hormônio. A síntese da VD está ilustrada na figura 3 (PETERS; MARTINI, 2014).

Alguns fatores são mais relevantes para determinação da concentração de VD, estes incluem a pigmentação da pele que regula a penetração da radiação, sendo que indivíduos de pele mais escura (que apresentam maior concentração de melanina) requerem maior tempo de exposição à radiação para síntese da pré-vitamina, pois a melanina compete com o pré-hormônio pelos raios UVB. Ressalta-se também que a síntese de VD apresenta uma variação sazonal devido ao fato de que a incidência de radiação UVB apresenta declínio no inverno em latitudes >30°. Outros fatores que alteram seus níveis no organismo incluem o estilo de vida (uso de protetor solar e vestimentas de comprimento longo) e determinantes genéticos (COUSSENS et al., 2015; WOLF, 2004).

Figura 3 – Síntese da vitamina D



Fonte: Adaptado de Clifford e Rosen (2011)

2.3.2. Funções biológicas

A VD é um hormônio fundamental para regulação da fisiologia osteomíneral, atuando na homeostase do cálcio e desenvolvimento de um esqueleto saudável (CASTRO, 2011; PETERS; MARTINI, 2014; CANUTO et al., 2015). Outras atuações do calcitriol compreendem a inibição da proliferação e estimulação da diferenciação de queratinócitos na pele, atividade antiangiogênica em neoplasias, aumento da força muscular e equilíbrio, atuação no aumento da síntese e secreção de insulina, controle da função cardíaca e da pressão arterial, regulação do desenvolvimento e funções cerebrais e modulação do sistema imune (ABBAS et al., 2008; MORA; IWATA; ANDRIAN, 2008; WANG et al., 2008; PLUDOWSKI et al., 2013).

No sistema imunológico o metabólito ativo 1,25-(OH)₂D compreende um potente modulador, com receptores em diversos tipos celulares (linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, macrófagos e células apresentadoras de antígenos), atuando na ativação e proliferação de linfócitos, sendo que a presença de receptores de VD nas células T CD4⁺ correlaciona-se proporcionalmente ao grau de ativação dessas células. Esse micronutriente apresenta um efeito inibitório em células T-helper-1, inibindo principalmente interleucina-2 (IL-2) e interferon- γ (IFN- γ), aumenta a secreção de citocinas pelas células T-helper-2 (interleucina-5 e 10 – IL-5 e IL-10) e modula as respostas das células T-helper-17. A VD também atua na maturação dos macrófagos, possibilitando a produção de antígenos de superfície específicos e a secreção de determinadas enzimas, enquanto que nas células dendríticas esse composto atua inibindo a diferenciação, a maturação e capacidade imunoestimuladora (MAHON et al., 2003; VAN ETTEN; MATHIEU, 2005; MORA; IWATA; ANDRIAN, 2008; PLUDOWSKI et al., 2013; PRIETL et al., 2013).

Em decorrência das inúmeras funções imunológicas relatadas para a VD, a sua deficiência ou insuficiência representa um fator de risco para o aparecimento de patologias autoimunes e seus efeitos adversos, a deficiência também representa uma maior taxa de mortalidade em indivíduos soropositivos para o HIV (MORA; IWATA; ANDRIAN, 2008; PETERS; MARTINI, 2014; EZEAMAMA et al., 2015; VIARD, 2015).

2.3.3. Hipervitaminose e hipovitaminose D

A forma ativa da VD não é utilizada para avaliação de suas concentrações séricas por apresentar uma meia-vida curta (4 horas) e baixa concentração circulante. Em quadros de déficit de VD, ocorre aumento da secreção de paratormônio (PTH), estimulando o rim a

produzir mais 1,25-(OH)₂D, assim, quando da deficiência de VD, observa-se diminuição de 25-(OH)D e os níveis de 1,25-(OH)₂D podem apresentar-se dentro da normalidade ou até elevados (MARQUES et al., 2010). Desta forma, o 25-(OH)D sérico é considerado o mais confiável e acurado parâmetro para definir as concentrações de VD (MARQUES et al., 2010; CLIFORD; ROSEN, 2011; PRIETL et al., 2013).

Considera-se hipovitaminose D quando as concentrações séricas desta vitamina estiverem abaixo dos níveis considerados fisiológicos. Os valores de referência para este parâmetro foram atualizadas em outubro de 2017 e conforme a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) e Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) indicou-se que as concentrações séricas “normais ou suficientes” encontram-se entre 20-100 ng/mL, valores entre 10-19,9 ng/mL são considerados “insuficientes” e aqueles abaixo de 10 ng/mL são ditos “deficientes” (SBEM, 2017).

Dosagens superiores a 100 ng/mL representam hipervitaminose, sendo considerado como limiar de toxicidade concentrações entre 200-250 ng/mL podendo ocasionar intoxicação associada à hipercalcemia, hipercalciúria e calcificações em diferentes órgãos, associado a sintomatologia de náuseas, vômito, anorexia, fadiga, episódios de diarreia e constipação, perda de peso e desorientação. Este quadro geralmente está associado a doses de suplementação diárias superiores a 4.000 UI/dia por períodos prolongados. Porém não há consenso quanto ao limite máximo tolerável, sendo que a Sociedade de Endocrinologia Americana (ES, do inglês *Endocrine Society*) utiliza valores de 10.000 UI/dia, enquanto o Instituto de Medicina Norte Americano (IOM, do inglês *Institute of Medicine*) e a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar indicam valores máximos de 4.000 UI/dia (CASUNO; THYS-JACOBS; BILEZIKIAN, 2011; SBEM, , 2017).

Apesar de não haver consenso referente à concentração para suplementação ideal desta vitamina vários estudos têm demonstrado que a presença de doenças imunológicas e aquelas relacionadas ao equilíbrio ósseo e mineral requerem concentrações mais elevadas para melhora dos quadros. Devido às inúmeras funções desse micronutriente, a deficiência sempre se apresenta associada com doenças (COUSSENS, et al., 2015). Longenecker e colaboradores (2012) descrevem que a hipovitaminose D pode estar associada à hipertensão, doenças cardiovasculares incidentes, infarto do miocárdio, morte cardiovascular e mortalidade total. Coussens e pesquisadores (2015) fazem uma associação da deficiência com diversas doenças transmissíveis e não transmissíveis, incluindo a progressão da infecção pelo HIV. A epidemiologia e alta prevalência da

hipovitaminose D relata esta como um importante problema para a saúde mundial, conforme a SBEM este quadro preocupante também se reflete na população brasileira (MAEDA et al., 2014).

2.4. CONSIDERAÇÕES GERAIS – SISTEMA PURINÉRGICO

2.4.1. Definições e contexto histórico

As funções extracelulares associadas às purinas foram descritas pela primeira vez em 1929 por Drury e Szent-Gyorgyi em uma pesquisa que relatava as atividades dos compostos de adenina no coração dos mamíferos, nos anos seguintes outros autores relataram o trifosfato de adenosina (ATP) e a adenosina como componentes associados a uma função vasodilatadora. A descrição do conceito de neurotransmissão purinérgica ocorreu em 1972 por Burnstock, que com base em suas pesquisas demonstrou a liberação de substâncias ativas (ATP) no sistema nervoso autônomo (SNA), as quais não estavam vinculadas ao sistema adrenérgico ou colinérgico, evidenciando a presença de outra rede de sinalização, a sinalização purinérgica. Evidências experimentais subsequentes demonstraram que o ATP atuava como transmissor ou co-transmissor e relataram a identificação de receptores extracelulares que desempenhavam funções fisiológicas induzidas pelas purinas, sendo os receptores purinérgicos P1 e P2 descritos em 1978 por Burnstock (BURNSTOCK, 1972; ABBRACCHIO; BURNSTOCK, 1994; RALEVIC; BURNSTOCK, 1998).

O sistema purinérgico compreende uma rede de sinalização celular, representando uma importante via moduladora de inúmeros processos fisiológicos, como modulação da resposta inflamatória e imunológica, atuando também na neurotransmissão e neuroproteção, no mecanismo da dor, na agregação plaquetária e tromborregulação, na vasodilatação mediada pelo endotélio, na proliferação e morte celular (BURNSTOCK, 2006a, 2006b; MARTINS et al., 2016; SOUZA et al., 2012, 2017).

Os componentes executores deste sistema incluem biomoléculas, sendo estas os nucleotídeos de adenina (ATP, difosfato de adenosina – ADP e monofosfato de adenosina – AMP), e seu derivado o nucleosídeo adenosina, os quais se ligam a receptores do grupo P1 e P2 para exercer sua atividade, sendo que a função destas é regulada por ectoenzimas, entre as quais ectonucleotidases (E-NPP, E-NTPDases, ecto-5'-nucleotidase e fosfatases alcalinas) e adenosina desaminase (ADA) (BURNSTOCK, 1997).

2.4.2. Nucleotídeos de adenina e nucleosídeo adenosina

Os nucleotídeos extracelulares, constituído pelo ATP, ADP e AMP, juntamente com o nucleosídeo de adenosina, estão associados a uma diversidade funcional, atuando como mensageiros extracelulares, que sinalizam diversos efeitos biológicos no meio extracelular (BURNSTOCK, 2006a).

2.4.2.1. ATP

O ATP é um nucleotídeo com capacidade de armazenamento de energia em suas ligações químicas. Sua conformação estrutural compreende o nucleosídeo adenosina conectado a três radicais de fosfato. Essa biomolécula é atuante na fosforilação oxidativa, e promove a liberação de energia sendo degradado sucessivamente em ADP e AMP (LEAL *et al.*, 2005). O ATP apresenta grande relevância para sinalização purinérgica, desempenhando além de suas funções intracelulares bem estabelecidas, uma atuação como sinalizador extracelular seletivo (BURNSTOCK, 2006a).

O ATP é liberado nos terminais pré e pós-sinápticos por mecanismo fisiológico e em resposta a hipóxia e injúrias, nestes casos indicando danos, lesões e morte celular aguda (LEAL *et al.*, 2005; DI VIRGILIO; VUERICH, 2015). O mecanismo de ação desta biomolécula é dependente da concentração fisiológica da mesma, local de ação e receptor, podendo apresentar atividades diferenciadas conforme o meio, como exemplo cita-se atividades pró e anti-inflamatórias (SOUZA *et al.*, 2017).

No organismo, outros locais de armazenamento e liberação deste nucleotídeo incluem as células do endotélio danificadas durante a resposta imune, onde se verifica o controle da permeabilidade da membrana durante os mecanismos de apoptose (BURNSTOCK, 2009). O ATP também atua estimulando a síntese de DNA na medula óssea e nos tímócitos, e inibe essa síntese no baço, linfonodos e linfócitos periféricos; essa biomolécula apresenta efeitos citostáticos e citotóxicos em determinadas linhagens tumorais e promove a liberação de histamina de mastócitos e de grânulos destes e dos neutrófilos, inibindo assim, a função de macrófagos e células *natural killer* (NK). Para as células do sistema imune esta biomolécula também atua como direcionador nos casos de lesão tecidual (LEAL *et al.*, 2005).

Além da função em curto prazo associada à neurotransmissão e secreção do ATP, e das demais purinas e pirimidinas tem sido descrita com importantes funções em longo prazo associadas à proliferação e crescimento celular, o desenvolvimento de doença e a citotoxicidade,

fatores estes que indicam uma possibilidade de utilização dessas biomoléculas e seus análogos para o desenvolvimento farmacológico (BURNSTOCK, 2006b).

2.4.2.2. Adenosina (ADO)

A adenosina compreende um importante nucleosídeo formado pela ligação de uma adenina a uma ribose, podendo ser formada a partir da hidrólise do ATP, atuando ligada a receptores ou de maneira intracelular, onde exerce atividade de sinalização na via das purinas (LEAL et al., 2005).

A ADO tem função moduladora do SNC atuando na apoptose, necrose e proliferação celular. Esse nucleosídeo é um sinalizador de dano celular, mediando ações anti-inflamatórias e sendo uma potente molécula imunossupressora, desempenhando também um papel protetor através da liberação de neurotransmissores, atua no estímulo a migração celular, inibe a agregação plaquetária e atua como vasodilatador, exercendo assim uma função protetora no coração, regulação endógena da imunidade inata e defesa nas lesões teciduais extensas associadas à inflamação (BOURS et al., 2006; SOUZA et al., 2012; DI VIRGILIO; VUERICH, 2015).

2.4.3. Receptores P1 e P2

Os receptores purinérgicos compreendem o local onde as biomoléculas serão acopladas para realização da transdução do sinal e efetivação das suas funções. Atualmente utiliza-se a divisão dos receptores conforme definido por Abbracchio e Burnstock, (1994).

2.4.3.1. Receptor P1 (RP1)

RP1 são receptores metabotrópicos, ou seja, receptores transmembrana que captam sinais extracelulares e ativam vias de transdução no interior da célula, cujo agonista endógeno é a adenosina (BARNARD; BURNSTOCK; WEBB, 1994; SCHACHTER et al., 2015).

Este grupo de receptores está ligado à proteína G e é composto por quatro subtipos (A1, A2A, A2B e A3), que apresentam similaridade estrutural e são amplamente distribuídos pelo organismo, com predominância no SNC e em menor quantidade nas regiões periféricas (sistema nervoso periférico – SNP), sendo esta distribuição variável conforme o subtipo, os receptores A1 e A2A são os que se encontram em maior quantidade nesses sítios, o subtipo A2B é expresso no intestino e na bexiga e o A3 encontra-se amplamente distribuído pelo organismo (SOUZA et al., 2012). Os receptores de adenosina P1 são também amplamente expressos pelas células imunes da linhagem mieloide e

linfoide, sendo que os subtipos A2A e A2B são principalmente imunossupressores e atuam no controle da inflamação (DI VIRGILIO; VUERICH, 2015).

2.4.3.2. Receptor P2 (RP2)

Os RP2 apresentam-se divididos em dois grupos de receptores, os ionotrópicos ou P2X e os metabotrópicos, ou P2Y. Os receptores P2Y apresentam estrutura semelhante aos RP1, possuindo oito subtipos de clones (P2Y1, 2, 4, 6, 11, 12, 13 e 14), cujo agonistas são as pirimidinas e as purinas, estes receptores são acoplados a proteína G utilizando está em seus mecanismos de transdução (BARNARD; BURNSTOCK; WEBB, 1994; BURNSTOCK, 1997, 2006b).

Os receptores P2X apresentam uma estrutura diferencial, formada por duas alfa-hélices transmembrana ligadas por uma longa alça extracelular, incluindo sete subunidades clonadas e sequenciadas (P2X1-7) sendo que a maioria está distribuída nos neurônios centrais e periféricos, e tem como agonista principal o ATP. Quando o ATP realiza a estimulação do P2X intracelularmente promove a despolarização celular, e sequencialmente a abertura do canal iônico, para influxo de Ca^{2+} , iniciando as funções celulares ativando cascatas de sinalização em diferentes tipos celulares (BARNARD; BURNSTOCK; WEBB, 1994; BURNSTOCK, 2006a).

Os receptores do tipo P2, além dos sítios citados (SNC e SNP – estando presentes nos astrócitos, oligodendrócitos, células de Schwann e células gliais entéricas), encontram-se em uma diversidade de tipos celulares amplamente distribuídos pelo organismo que incluem as células de gânglios da retina, células hepáticas e pancreáticas, espermatozoides, células ósseas como osteoclastos e osteoblastos e um variedade de células associadas a atividades endócrinas, esses purinoreceptores também estão presentes nas células do sistema imunológico, incluindo os mastócitos, os linfócitos T e B, os macrófagos e os neutrófilos, as células dendríticas, as células NK, as plaquetas, os trombócitos e os eritrócitos (DI VIRGILIO; ANDREA BOREA; ILLES, 2001; BURNSTOCK, 2009; DI VIRGILIO; VUERICH, 2015).

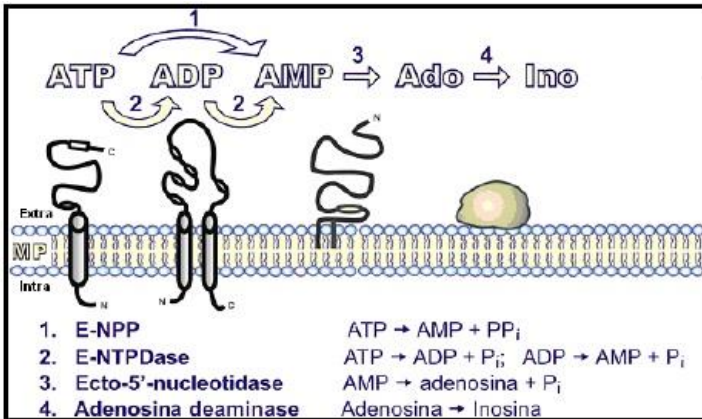
A expressão dos purinoreceptores P2Y e P2X em células imunes e inflamatórias promove a modulação de respostas-chave, como quimiotaxia e liberação de citocinas, sendo que agonistas e antagonistas seletivos para subtipos de purinoreceptores P2 representam alvos terapêuticos para desenvolvimento de fármacos em condições patológicas (BARNARD; BURNSTOCK; WEBB, 1994; DI VIRGILIO; ANDREA BOREA; ILLES, 2001).

2.4.4. Ectoenzimas

As ectoenzimas purinérgicas compreendem enzimas com capacidade de regular a concentração extracelular de ATP e adenosina, desta forma, são relevantes para os diversos processos fisiológicos nos quais as biomoléculas são atuantes e sinalizadoras. A atuação destas ectoenzimas compreende a hidrólise dos nucleotídeos extracelulares em seus respectivos nucleosídeos, após estes realizarem suas funções (LEAL et al., 2005; YEGUTKIN, 2008; MARTINS et al., 2016; SOUZA et al., 2017).

Os componentes do sistema purinérgico e a atuação das ectoenzimas sobre as biomoléculas está representado na figura 04.

Figura 4 – Componentes do sistema purinérgico



Fonte: Adaptado de Yegutkin (2008)

2.4.4.1. Ectonucleotidases

Este grupo de enzimas apresenta-se ancorada a membrana celular, com sítio ativo voltado ao meio extracelular, podendo estar presente também em forma solúvel no meio intersticial, sendo composto pela família das ecto-nucleotídeo pirofosfatase/fosfodiesterase (E-NPP), ecto-nucleosídeo trifosfato difosfodiesterases (E-NTPDases) e ecto-5'-nucleotidase (LEAL et al., 2005; MARTINS et al., 2016).

Os componentes do grupo das E-NTPDases compreendem 8 membros, os quais hidrolisam tanto ATP quanto ADP apresentando algumas preferências individuais conforme o subtipo, formando consequentemente AMP, na presença de cátions divalentes de cálcio ou magnésio (LEAL et al., 2005; REZER et al., 2007).

As E-NTPDases são encontradas em vários locais, com apresentação nos linfócitos humanos, sendo registrada sua presença também no coração, placenta, pulmões, fígado, músculos esqueléticos, timo, rim, pâncreas, regiões do sistema reprodutor, e cérebro, sendo que alguns subtipos apresentam predominância em determinados órgãos ou tecidos do organismo (LEAL et al., 2005).

As funções associadas às E-NTPDases incluem o controle dos linfócitos, reconhecimento dos antígenos, ativação de funções efetoras das células T citotóxicas, e geração de sinais que aumentam as interações célula-célula. A NTPDase-1 (CD39) é uma das ectoenzimas com maior expressão na superfície de células T reguladoras (Treg) e apresenta uma alta atividade catalítica quando ligado aos receptores de células T (LEAL et al., 2005; SCHACHTER et al., 2015).

A ecto-5'-nucleotidase (CD73) está associada à maturação e ativação dos linfócitos, e sua expressão à resistência de algumas linhagens de células tumorais a agentes quimioterapêuticos (HANSEN et al., 1995). Essa ectoenzima tem função sinalizadora e atua em processos de adesão célula-célula e célula-matriz. Juntamente com as NTPDases atua na neurotransmissão em diferentes doenças, com o objetivo de reduzir os níveis de ATP e aumentar os níveis de adenosina no meio (LEAL et al., 2005; JAQUES et al., 2011; SOUZA et al., 2012).

2.4.4.2. Adenosina desaminase (ADA)

A ectoenzima ADA tem como função promover a desaminação hidrolítica na superfície celular da adenosina em inosina, que compreende um metabólito inativo, e sua deficiência contribui para condições patológicas devido ao aumento anormal das concentrações de adenosina extracelular (MARTINS et al., 2016). A ADA apresenta duas isoformas (1 e 2), amplamente distribuídas nos tecidos animais, a isoforma ADA1 apresenta maior concentração nestes tecidos e a ADA2 tem maior concentração no soro, sendo que estas enzimas atuam com grande atividade no timo, tecidos linfoides e em linfócitos periféricos, promovendo o crescimento normal dos linfócitos, além de sua diferenciação e proliferação (BURNSTOCK, 2006b, 2009).

2.5. CONSIDERAÇÕES GERAIS – ESTRESSE OXIDATIVO

2.5.1. Definições – Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo foi definido pela primeira vez por SIES (1985) que indicou este como “um distúrbio no equilíbrio antioxidante e pro-

oxidante em favor das espécies oxidantes, levando a danos potenciais”. Com base nos inúmeros estudos e informações relacionados a esta área, pode-se ampliar este conceito indicando que o estresse oxidativo compreende um estado de desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e a capacidade antioxidante, onde se observa uma produção exacerbada destas moléculas reativas e/ou uma falha das defesas antioxidantes. As falhas das defesas antioxidantes podem estar associadas ao processo de remoção ou a velocidade deste processo, caracterizando uma capacidade reduzida dos sistemas de defesa de impedirem o ataque oxidativo direcionado às biomoléculas alvos (SIES, 2015; SIES; BERNDT; JONES, 2017).

Em condições patológicas de desequilíbrio podem ocorrer danos oxidativos que promovem a modificação irreversível das macromoléculas biológicas incluindo a modificação das suas estruturas e modulação das suas funções, que compreendem:

- Danos oxidativos aos carboidratos;
- Danos aos ácidos nucléicos, pela reticulação da proteína do DNA, ruptura de cordas e alteração na estrutura das bases de purina e piridina, podendo ocasionar a mutação dessa biomolécula;
- Oxidação proteica, carbonilação proteica e oxidação de tióis, que ocasionam a perda da atividade das proteínas; e
- Peroxidação lipídica, que ocasiona impactos a estrutura das membranas e promove a formação de aldeídos reativos (JOHNSON; GIULIVI, 2005; REIS et al., 2008; PISOSCHI; POP, 2015).

O quadro de desequilíbrio, associado a alterações inflamatórias, é relatado como determinante para o início e progressão de diferentes doenças agudas e crônicas. O estresse oxidativo ocasiona uma maior expressão de oncogenes, geração de compostos mutagênicos, promoção de atividade aterogênica, ocorrência de placa senil ou inflamação, quadros estes que podem conduzir a aterosclerose, diabete mellitus, obesidade, envelhecimento precoce, transtornos neurodegenerativos e câncer (JOHNSON; GIULIVI, 2005; ALFADDA; SALLAM, 2012; CAROCHO; FERREIRA, 2013; FORMAN; URSINI; MAIORINO, 2014).

2.5.2. Espécies reativas de oxigênio (ERO)

A produção de ERO, ocorre em um processo de equilíbrio contínuo e fisiológico, principalmente nas mitocôndrias no processo aeróbio que utiliza oxigênio com a finalidade de oxidar as moléculas de carbono e hidrogênio que atuam como mediadores para a transferência de elétrons nestas reações bioquímicas, possibilitando assim a geração de energia

através de ATP, além dessas moléculas atuarem na sinalização celular e reações biossintéticas. O controle deste processo é executado pelos mecanismos que buscam limitar os níveis intracelulares de tais espécies reativas e conseqüentemente, controlar a ocorrência de danos (SIES, 1985, 2015; CULOTTA, 2000; ALFADDA; SALLAM, 2012; BAUER; DE LA FUENTE, 2016).

As ERO também são produzidas em decorrência da exposição a infecções microbianas envolvendo ativação de fagócitos, durante a atividade física intensa ou pela exposição à ação de poluentes e toxinas, entre os quais pode-se citar os componentes da fumaça de cigarros, utilização de substâncias alcoólicas, exposição a radiações ionizantes e UV, pesticidas e ozônio (PISOSCHI; POP, 2015).

Caracteriza-se estas ERO como átomos, íons ou moléculas que contêm oxigênio com um elétron não pareado em sua órbita externa. Devido à presença deste elétron, estas moléculas apresentam grande instabilidade e elevada reatividade, com estas características elas tendem a ligar este elétron com outros presentes em estruturas próximas de sua formação, comportando-se como receptores (oxidantes) ou doadores (redutores), sendo que a ligação pode ocorrer com as principais classes de biomoléculas, e os lipídeos são os mais suscetíveis (SPECTOR, 2009; SIES; BERNDT; JONES, 2017).

Além das ERO, outros radicais que contêm nitrogênio podem ocasionar danos ao organismo, estes são denominados de espécies reativas de nitrogênio (ERN) e são derivados do radical óxido nítrico. Entre as espécies reativas cita-se: superóxido (O_2^-), hidroxila (OH), oxigênio singleto ($1/2 O_2$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), alcóxido, peroxil, óxido nítrico e peroxinitrito (SPECTOR, 2009; OROIAN; ESCRICHE, 2015; NIKI, 2016).

2.5.3. Defesa antioxidante

Define-se como antioxidantes aqueles compostos que possuem a capacidade de retardar ou prevenir a oxidação de um substrato. Conseqüentemente as funções destes compostos estão associadas à defesa do organismo e a redução do dano oxidativo ocasionado em situações de estresse (PISOSCHI; POP, 2015; SIES; BERNDT; JONES, 2017).

O organismo possui sistemas de defesas antioxidantes que atuam na manutenção do equilíbrio e eliminação dos radicais livres (do inglês, *ROS scavengers*), estas moléculas degradadoras atuam impedindo a formação das ERO (sistemas de prevenção), impedindo a ação dessas espécies (sistemas varredores) ou favorecendo o reparo e a reconstrução das estruturas biológicas lesadas (sistemas de reparo) (BARBOSA et al.,

2010; ALFADDA; SALLAM, 2012; BAUER; DE LA FUENTE, 2016; FORMAN; URSINI; MAIORINO, 2014).

Conforme as características de cada sistema de defesa os antioxidantes são classificados em enzimáticos e não enzimáticos (denominação mais utilizada), preventivos ou de reparação, endógenos ou exógenos, primários ou secundários, hidrossolúveis ou lipossolúveis, e naturais ou sintéticos (PISOSCHI; POP, 2015; SHAHIDI; ZHONG, 2015).

O mecanismo antioxidante enzimático é composto pela superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx), que compreendem a linha inicial de defesa endógena de neutralização das espécies reativas. A atuação destas enzimas é na manutenção de baixas quantidades do radical superóxido e de peróxidos de hidrogênio, consequentemente, evitando a formação do radical hidroxila, através de uma sequência de ações que resulta na formação de H₂O e O₂ (SPECTOR, 2009; BARBOSA et al., 2010).

O sistema antioxidante não enzimático é composto, especialmente, de compostos oriundos da dieta, que incluem o ácido úrico, o ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), e moléculas que contêm sulfidril (SH) denominados tióis não protéicos (NPSH, do inglês *non protein thiols*), como é o caso da glutathione e cisteína (OROIAN; ESCRICHE, 2015; SIES; BERNDT; JONES, 2017).

2.6. CORRELAÇÃO HIV, VITAMINA D, SISTEMA PURINÉRGICO E ESTRESSE OXIDATIVO

A infecção ocasionada pelo HIV e o desenvolvimento da AIDS constituem uma doença de grande preocupação para a saúde pública, devido ao número de casos diagnosticados, principalmente em populações de maior exposição ao vírus, como indivíduos privados de liberdade, tornando-se necessário a elaboração de pesquisas que visam identificar características associadas a esta infecção e sugerir estratégias de abordagem terapêutica e de prevenção a estes indivíduos.

Numerosos estudos indicam fatores que ocasionam um pior prognóstico ao paciente soropositivo, entre esses fatores a deficiência de VD é relatada pelos autores Rutstein et al. (2011), Theodorou et al. (2014), Shepherd et al. (2014), Canuto et al. (2015), Ezeamama e colaboradores (2015), entre outros, que indicam uma prevalência de deficiência desse micronutriente entre 1,6 a 89,2% em diferentes

populações, além de elevadas taxas de insuficiência vitamínica. Os autores também correlacionaram essa deficiência com baixas contagem de células CD4+ e uma progressão mais severa do HIV, além de maior sobrevida associada a recuperação das concentrações do micronutriente.

Outro fator relevante associado ao HIV compreende as alterações metabólicas ocasionadas pelo vírus, que incluem alterações bioquímicas e imunológicas, onde pode-se citar o estresse oxidativo e alterações na sinalização purinérgica.

O desenvolvimento de estresse oxidativo nestes indivíduos associa-se a diversos mecanismos, entre os quais cita-se a prolongada ativação do sistema imunológico e maior produção de ERO, devido ao aumento na ativação de leucócitos polimorfonucleares ou em decorrência aos efeitos pró-oxidantes do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) produzido pelos macrófagos que são ativados durante a infecção. As EROs induzem a transativação do HIV em células de monócitos, ocasionando maior produção de citocinas pró-inflamatórias, as quais podem estar associadas ao aumento da replicação viral (BHAT; ISMAIL, 2015; IVANOV et al., 2016).

Nesse contexto de estresse oxidativo em indivíduos soropositivos para o HIV-1 a VD tem sido indicada como um micronutriente, quando em concentrações fisiológicas adequadas, importante para proteção das células frente aos danos oxidativos, atuando como cofator na estimulação da atividade das enzimas antioxidantes (BHAT; ISMAIL, 2015; WATANABE et al., 2015; IVANOV et al., 2016).

O sistema de sinalização purinérgica foi descrito recentemente e acredita-se em uma possível relação das ectoenzimas como componentes que auxiliam no bloqueio de progressão da doença ocasionada pelo HIV e melhora da resposta imune (LEAL et al., 2005; ANTONIOLI et al., 2013; BURNSTOCK; BOEYNAEMS, 2014; DI VIRGILIO; VUERICH, 2015). Devido aos poucos trabalhos na literatura, torna-se relevante pesquisar e elucidar a função destes componentes sinalizadores na patologia ocasionada pelo HIV-1, buscando o entendimento e conhecimento de suas funções. Referente à utilização de suplementação com VD nos pacientes soropositivos e avaliação da sinalização purinérgica, não foram encontrados estudos na literatura, assim, esta pesquisa representa uma possibilidade de novos conhecimentos para a população alvo.

A hipótese desse estudo compreende a indicação de uma correlação das concentrações de VD com marcadores imunológicos relacionados a infecção ocasionada pelo HIV, indicando que a suplementação vitamínica possibilitará uma melhora desses marcadores

imunológicos e dos marcadores associados ao perfil oxidativo, bioquímico e da atividade das ectoenzimas purinérgicas.

Desta forma, a realização desse estudo busca elucidar diferentes sistemas e as concentrações de seus componentes nos indivíduos HIV soropositivos após a suplementação com VD, com o objetivo de obter resultados que proporcionem indicadores de uma melhora na qualidade de vida.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliação do sistema purinérgico e perfil oxidativo em pacientes soropositivos para o HIV-1 em resposta a suplementação de vitamina D, em uma população privada de liberdade residente no Oeste Catarinense.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar as concentrações de VD em indivíduos soropositivos e soronegativos para HIV-1, antes e após a suplementação com VD;
- Avaliar a restauração das concentrações de VD nos indivíduos soronegativos e soropositivos para o HIV-1 após o período de suplementação;
- Analisar o perfil bioquímico dos indivíduos do estudo antes e após a suplementação com VD;
- Avaliar a hidrólise das ectoenzimas purinérgicas em indivíduos soropositivos e soronegativos para o HIV-1 antes e após a suplementação de VD;
- Determinar o perfil oxidativo da população estudada correlacionando à suplementação de VD;
- Analisar os resultados da contagem de células T CD4+ e T CD8+, como indicadores de resposta imune, em indivíduos soropositivos para o HIV-1, antes e após suplementação com VD;

4. METODOLOGIA

4.1. CASUÍSTICA

A presente pesquisa foi conduzida como um estudo de intervenção com indivíduos soropositivos atendidos pelo Hospital Municipal de AIDS de Chapecó/SC (Hospital DIA) provenientes de Unidades Prisionais do Oeste do Estado de Santa Catarina caracterizadas como penitenciárias, e indivíduos soronegativos que se encontravam em regime de reclusão e detenção nestas Unidades Prisionais.

As Unidades Prisionais que possuem a característica de penitenciária são aquelas onde os indivíduos sentenciados e sem possibilidade de recursos irão cumprir suas penas, sendo que o Oeste do Estado de Santa Catarina possui duas unidades com a presente denominação, que correspondem a Penitenciária Agrícola e Penitenciária Industrial de Chapecó.

O Hospital DIA compreende um serviço de atenção especializado que objetiva o atendimento humanizado e de qualidade a pacientes soropositivos, constituído de equipe multidisciplinar atendendo pacientes de 37 municípios da região Oeste.

O presente estudo compreende dois grupos amostrais:

- Grupo teste: Representado por indivíduos privados de liberdade HIV soropositivos em regime prisional fechado e semiaberto, com suplementação de VD;

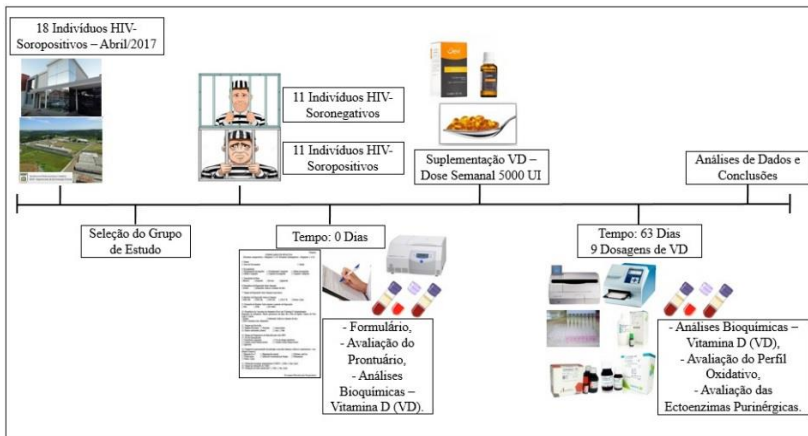
- Grupo controle: Representado por indivíduos privados de liberdade HIV soronegativos em regime prisional fechado e semiaberto, com suplementação de VD.

O recrutamento dos pacientes teve início no mês de abril de 2017, sendo realizado em parceria com o setor de assistência social do complexo prisional, a partir de informações obtidas no Hospital DIA. Os sujeitos foram informados sobre os objetivos e procedimentos da pesquisa, as dúvidas esclarecidas e procedido o convite à participação voluntária do estudo, sendo que aqueles que aceitaram participar assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), conforme apêndice A.

O número de pacientes soropositivos era representado na fase inicial da pesquisa por 18 indivíduos, aplicou-se o cálculo amostral para obtenção de um nível de confiança de 95% e um erro máximo de 5% indicando como resultado que a amostragem ideal deveria ser representada pela totalidade da população. No decorrer do recrutamento 2 indivíduos foram libertos e 1 transferido, totalizando 15 indivíduos

aptos para o estudo, dos quais 12 aceitaram participar voluntariamente do estudo. Em decorrência de uma evasão, o grupo teste foi composto por 11 detentos soropositivos o que representou um nível de confiança de 85%, representado no estudo como intervalo de confiança (IC), e um erro máximo de 15%, e o grupo controle recrutado diretamente nas unidades prisionais foi composto pelo mesmo número de indivíduos com características similares aos testes (faixa etária e regime prisional), os quais após a primeira coleta tiveram sua sorologia negativa para o HIV confirmada por resultado laboratorial. A Figura 05 representa o desenho amostral do presente estudo, incluindo um resumo das etapas que foram executadas no decorrer desta pesquisa.

Figura 5 – Desenho experimental



Fonte: A Autora

4.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídos na pesquisa indivíduos com idade superior a 18 anos, do gênero masculino, soropositivos para o HIV-1 e que se encontravam privados de liberdade nas Penitenciárias Agrícola e Industrial de Chapecó, e que apresentaram concentrações de VD abaixo de 30,3 ng/mL (concentração de VD mais elevada antes do período de suplementação).

Crítérios de exclusão, compreenderam indivíduos que finalizaram suas penas no decorrer do estudo ou se evadiram das unidades prisionais, aqueles que já faziam uso da VD e os que utilizavam medicações que

alteram as concentrações da VD, tais como: glicocorticoide sistêmico, hormônios, isoniazida, fenobarbital, fenitoína ou rifampicina. A exclusão também contemplou indivíduos que possuíam doenças que alteram o mecanismo de absorção e metabolização da VD, tais como hepatite B e C.

4.3. AUTORIZAÇÕES E COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS

Para execução do projeto foram solicitadas autorizações aos órgãos competentes, que incluem a Secretaria Municipal de Saúde do município de Chapecó responsável pela coordenação do Hospital DIA e a Gerência do Complexo Prisional de Chapecó responsável pela coordenação das Penitenciárias. Os envolvidos assinaram declarações de ciência e concordância.

A presente pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos através da Plataforma Brasil na Universidade Federal da Fronteira Sul, sendo aprovada com número CAAE 62711516.6.0000.5564, conforme anexo A.

4.4. SUPLEMENTAÇÃO VITAMÍNICA

Após esclarecimentos dos indivíduos participantes do estudo, assinatura da documentação necessária e realização dos procedimentos analíticos iniciais, conforme descrito na análise de dados, iniciou-se a terapia de suplementação vitamínica. A vitamina foi fornecida sobre a forma líquida de colecalciferol 5.000 UI, com posologia de uma dose semanal, totalizando 9 dosagens e um período de acompanhamento de 9 semanas, totalizando 63 dias. A administração da dose do fármaco foi realizada pela pesquisadora, sendo que a mesma também realizou o acompanhamento dos pacientes e orientações sobre dúvidas e procedimentos no caso de reações adversas, conforme indicações do fabricante (MAEDA et al., 2014).

4.5. ANÁLISE DE DADOS

Os dados foram analisados conforme as seguintes ferramentas: o prontuário e o questionário foram avaliados antes do início da suplementação; as análises laboratoriais foram procedidas antes e após a suplementação.

4.5.1. Formulário de pesquisa

Realizou-se entrevista presencial por meio de formulário elaborado pelos pesquisadores, conforme apêndice B, com o intuito de coletar dados de identificação (nome, data de nascimento), dados demográficos (idade, tonalidade de pele), dados socioeconômicos (escolaridade), e outras variáveis relevantes, que incluem questionamentos relacionados à VD, como a frequência e quantidade de horas, horário de exposição solar semanal, utilização de protetor solar e consumo de alimentos ricos em VD. O tempo de reclusão, exercício de atividade laboral e regime prisional do paciente também constituíram o formulário. Estes questionamentos foram realizados aos dois grupos de participantes.

Aos pacientes HIV soropositivos foram solicitadas informações adicionais, como o tempo de diagnóstico da infecção e via de transmissão, ocorrência de doenças oportunistas, doenças crônicas não relacionadas ao HIV (hipertensão arterial e/ou diabetes), uso e período de utilização da terapia de antirretrovirais. As respostas obtidas foram transcritas em tabelas e analisadas.

4.5.2. Avaliação do prontuário

Realizou-se a avaliação do prontuário dos pacientes para obtenção de dados relacionados à sua situação de saúde/doença, incluindo a utilização de medicação contínua que altere os níveis de VD e HAART empregada em pacientes soropositivos, doenças crônicas e oportunistas diagnosticadas nos últimos 6 meses e resultados de análises laboratoriais. Os dados obtidos foram tabulados e avaliados.

4.6. ANÁLISE LABORATORIAL

4.6.1. Coleta e processamento do material biológico

As amostras foram coletadas por punção venosa antero-cubital, em tubos de sangue total com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), citrato de sódio e tubos sem anticoagulante e com gel para separação do soro, com proteção da luz. O procedimento de coleta ocorreu na sala de coletas da unidade de saúde localizada nas dependências do complexo prisional, sendo realizado por profissional capacitado na área, garantindo a privacidade e sigilo dos indivíduos.

Todo o procedimento de coleta das amostras biológicas, manipulação e descartes de resíduos infectantes foram executados em consonância com as normas de biossegurança, sequencialmente as

amostras foram acondicionadas em caixas de isopor com blocos de gelo reciclável e encaminhadas ao laboratório de Microbiologia, Parasitologia e Imunologia da UFFS para processamento das mesmas.

4.6.1.1. Protocolo de separação de soro, plasma e sangue total com citrato

O tubo contendo gel separador foi centrifugado em centrífuga modelo Sigma 3-16L a uma rotação de 3.500 rpm por 15 minutos, após centrifugação o soro obtido foi separado em três frascos, um quantitativo foi colocado em tubo de ensaio para realização das análises bioquímicas, 500 µL foram colocados em microtubo e encaminhados a um laboratório do município de Chapecó para realização da dosagem da VD e o restante do soro obtido foi guardado em um criotubo no ultrafreezer Indrel IULT 335D-486 à -80°C para realização de análises do perfil oxidativo.

A partir de um dos tubos com EDTA realizou-se a centrifugação da amostra a uma rotação de 3.500 rpm por 15 minutos, e o sobrenadante contendo o plasma foi guardado em um criotubo no ultrafreezer à -80°C para posterior realização das análises.

Um dos tubos contendo amostra e anticoagulante citrato de sódio foi homogeneizado por inversão e a partir do sangue total deste frasco separou-se um volume de 500 µL em um criotubo e armazenou-se nas condições acima descritas.

4.6.1.2. Protocolo de separação dos linfócitos

Para separação da camada de linfócitos utilizou-se a metodologia de Böyum (1968).

Procedeu-se a colocação de 4 mL de sangue total com EDTA em um tubo falcon, ao qual adicionou-se 4 mL de solução fisiológica 0,9% (salina), fechou-se o tubo e homogeneizou-se levemente. Em outro tubo colocou-se 3 mL do reagente Ficoll® e a este adicionou-se levemente pelas bordas a amostra diluída em solução fisiológica, o tubo foi centrifugado a uma rotação de 1.800 rpm por 30 minutos. Após a centrifugação observou-se a formação de um gradiente, contendo uma camada de células mononucleares (“nuvem”) entre as camadas do reagente e do plasma. Procedeu-se a retirada desta “nuvem” de células em tubo falcon vazio, adicionando sequencialmente 10 mL de solução fisiológica, o tubo foi tampado e centrifugado à 1.500 rpm por 15 minutos. Após este procedimento o sobrenadante foi descartado por inversão, e ao precipitado adicionou-se 5 mL de salina e realizou-se centrifugação à 1.200 rpm por 10 minutos. Novamente, descartou-se o sobrenadante por inversão e ao precipitado adicionou-se 1mL de solução fisiológica e realizou-se centrifugação à 1.000 rpm por 05 minutos. Após

a última centrifugação descartou-se o sobrenadante e adicionou-se 175 µL de salina, guardando a amostra no ultrafreezer à -80°C para realização dos protocolos analíticos.

4.6.1.3 Protocolo de separação das plaquetas

Para separação de plaquetas utilizou-se a metodologia de Pilla et al., (1996) modificada por Lunkes et al., (2003).

Com o restante da amostra contendo sangue total em anticoagulante citrato de sódio, realizou-se centrifugação dos tubos a uma rotação de 1.200 rpm por 10 minutos. Após a retirada da centrífuga, retirou-se o sobrenadante em um tubo de ensaio, o qual foi centrifugado à 5.000 rpm por 30 minutos. Retirou-se os tubos da centrífuga e descartou-se o sobrenadante, ao precipitado foi adicionado 2 ml do tampão HEPES 3,5 mM a pH 7,2, homogeneizando até a completa dissolução. Esse homogeneizado foi centrifugado por mais 10 minutos a 5.000 rpm. Após o último procedimento de centrifugação, retirou-se o sobrenadante e adicionou-se 500 µl do tampão HEPES as plaquetas, guardando a amostra no ultrafreezer à -80°C.

4.6.2. Dosagem de vitamina D

Para avaliação da VD utilizou-se a dosagem sérica da fração 25(OH)D. Os critérios de interpretação dos resultados seguiram as orientações propostas pela SBEM, sendo considerados os seguintes valores laboratoriais:

- Deficiência: < 10,0 ng/mL;
- Insuficiência: 10,0–19,9 ng/mL e;
- Suficiência: Superiores a 20,0 ng/mL.

As concentrações de VD foram determinadas a partir do soro fracionado usando a técnica de imunoensaio quimioluminescente de micropartículas (QMIA), a qual mede a combinação das frações D2 e D3. O ensaio laboratorial da VD foi realizado em laboratório de referência do município.

4.6.3 Contagem diferencial de linfócitos T CD4+ e CD8+

A contagem diferencial de linfócitos T CD4+/CD8+ foi realizada em amostras de sangue total com anticoagulante EDTA, com finalidade de detectar e quantificar os antígenos específicos (CD4 e CD8) na superfície das células, utilizando anticorpos monoclonais específicos marcados com diferentes fluorocromos. O protocolo para realização das análises seguiu as diretrizes estabelecidas pelo Ministério da Saúde, sendo executado por intermédio do Hospital DIA.

O procedimento compreende o tratamento inicial de uma fração de 50 µl da amostra com solução lisante para eliminação da interferência ocasionada pelas hemácias, e marcação da amostra com anticorpos monoclonais, após 60 minutos ao abrigo da luz foi realizada a identificação e contagem das populações de linfócitos presentes na amostra. A leitura foi procedida em citômetro de fluxo seguindo os valores de referência para as contagens celulares de:

- CD4: 500 à 1500/mm³ e
- CD8: 300 à 1000/mm³.

4.6.4. Avaliação do sistema purinérgico

Para avaliação do sistema de sinalização purinérgico foram utilizadas amostras de plaquetas e linfócitos dos indivíduos em estudo. Para mensuração da hidrólise do ATP em ADP e AMP e avaliação da atividade das ectoenzimas NTPDase e ecto-5'-nucleotidase, foi mensurada a quantidade de fosfato inorgânico liberado através de ensaio colorimétrico, com leitura em espectrofotômetro a 630 nm, utilizando o método de Pilla et al., (1996) adaptado por Lunkes et al. (2003) e a atividade da ADA foi determinada através da quantidade de amônia liberada pela ação da enzima com leitura em espectrofotômetro a 620 nm, segundo o método descrito por Giusti e Galanti, (1984) conforme procedimentos analíticos padronizados no laboratório.

Os reagentes utilizados incluem os substratos do sal dissódico de adenosina 5'-trifosfato, sal de sódio de adenosina 5'-difosfato, sal de sódio 5'-monofosfato, adenosina, Ficoll-Histopaque (Lymphoprep) e Coomassie Brilliant Blue G, os quais foram obtidos da Sigma -Aldrich (St. Louis, MO, EUA), todos os demais reagentes utilizados no experimento foram de grau analítico e alta pureza.

4.6.4.1. Avaliação da enzima ecto-5'-nucleotidase e NTPDase em plaquetas

A amostra de plaquetas conservada em tampão HEPES foi descongelada para realização dos ensaios, inicialmente realizou-se a dosagem de proteínas conforme o método de Bradford (1976).

Para determinação das proteínas utilizou-se o reagente Azul de Comassie, a partir do qual realizou-se curva padrão em triplicata com albumina bovina, procedendo as leituras em espectrofotômetro UV/VIS 5300PC, da Metash, a 595 nm, e obteve-se o fator de correção (FC) do reagente de 0,073. Para dosagem de proteína adicionou-se em um tubo de ensaio 50 µL de amostra e 2.500 µL de Azul de Comassie e calculou-se as concentrações.

Para proceder os ensaios é necessário que a concentração de proteínas na amostra esteja entre 0,4-0,6 mg/mL, para valores obtidos acima destes parâmetros, realizou-se a diluição da amostra com o tampão HEPES.

Preparou-se a solução de incubação utilizando-se cloreto de sódio (NaCl) 1,2 M, glicose 60 mM, cloreto de potássio (KCl) 50 mM, tris-hidroclorato (Tris-HCl) 500 mM (pH 7,4), cloreto de cálcio (CaCl₂) 50 mM e água destilada, a qual foi adicionada no volume de 160 µL em cada cavidade da placa juntamente com 20 µL das amostras em duplicata e pré-incubada à 37°C por 10 minutos. Ao retirar a placa do banho-maria adicionou-se 20 µL do substrato (ATP/ADP 10 mM) e incubou-se por 60 minutos, após este período adicionou-se 100 µL de ácido tricloroacético (TCA) 15%, o qual permite a parada da reação. E procedeu-se a coloração, utilizando 30 µL da amostra e 300 µL de verde malaquita com leitura da absorbância em 630 nm.

Para a determinação da atividade da ecto-5'-nucleotidase, preparou-se solução de incubação similar da NTPDase, substituindo o CaCl₂ 50 mM por cloreto de magnésio (MgCl₂) 100 mM e utilizou-se como substrato o AMP 20 mM.

Para ambas as determinações de hidrólise dos nucleotídeos utilizou-se as médias das absorbâncias multiplicadas pelo fator de correção do fosfato (FCF), e divididas pelo tempo de incubação, volume e concentração de proteínas. Ao final os resultados foram expressos em nmol pi/min/mg de proteína.

4.6.4.2 Adenosina desaminase em plaquetas

Para avaliação da enzima adenosina desaminase procedeu-se a identificação de dois poços na placa pertencentes a mesma amostra e pipetou-se 30 µL de amostra apenas no “poço 01”, colocou-se 90 µL de adenosina nos dois poços, sendo a placa incubada por 60 minutos à 37°C, após esse período pipetou-se 30 µL da amostra no “poço 02”, e em ambos os poços colocou-se 80 µL de fenol e 80 µL de hipoclorito. A placa foi novamente incubada pelo período de 30 minutos à 37°C e procedida a leitura a 620 nm. Para definição dos resultados utilizou-se a média das absorbâncias e do padrão, multiplicados pelo FC, sendo os valores obtidos expressos em unidades/litro (U/L).

4.6.4.3. Avaliação da enzima ecto-5'-nucleotidase e NTPDase em linfócitos

Procedeu-se a dosagem da concentração de proteínas nas amostras de linfócitos seguindo o método de Bradford (1976), conforme executado

nas plaquetas. Para realização da atividade das enzimas ajustou-se a concentração de proteínas para a faixa de 0,1-0,2 mg/mL, para valores obtidos acima destes parâmetros, realizou-se a diluição da amostra com solução fisiológica.

O procedimento de avaliação da hidrólise dos nucleotídeos e atividade da ecto-5'-nucleotidase e da NTPDase em linfócitos foi procedida conforme o protocolo de Pilla et al., (1996), conforme empregado na amostra de plaquetas, diferindo apenas no tempo de incubação, que foi de 70 minutos.

4.6.4.4. Adenosina desaminase em linfócitos

Procedeu-se o protocolo de avaliação da adenosina desaminase conforme executado com a amostra de plaquetas.

4.6.5. Avaliação do Perfil Oxidativo

O perfil oxidativo dos indivíduos em estudo foi avaliado pela determinação de indicadores de estresse oxidativo, como as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), e a mieloperoxidase (MPO), e pela avaliação das defesas antioxidantes, que incluíram as concentrações tióis proteicos e não proteicos e vitamina C. As leituras espectrofotométricas foram executadas em espectrofotômetro de microplacas Multiskan™ GO, da Thermo Fischer Scientific.

4.6.5.1. TBARS

A metodologia empregada para avaliação de TBARS seguiu o protocolo de Jentzsch *et al.* (1996), com leitura a 532 nm. Essa técnica tem como objetivo medir a formação de malondialdeído (MDA), que compreende uma substância formada pela reação das ERO com os lipídios de membrana, que é denominado lipoperoxidação (LPO). A LPO ocasiona alterações na membrana que compreendem transtornos de permeabilidade, perda de seletividade e comprometimento dos componentes da matriz extracelular. O MDA, quando aquecido em presença do ácido tiobarbitúrico, forma um composto de coloração rosa, o qual foi medido espectrofotometricamente (JENTZSCH *et al.*, 1996; OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979).

As amostras de plasma foram avaliadas em quadruplicata, nos tubos pipetou-se sequencialmente 50 µL de água destilada, 5 µL de di-terc-butil metil fenol (BHT) 10 mM, 295 µL de ácido ortofosfórico 1%, 25 µL de lauril sulfato de sódio (SDS) 8,1%, 50 µL da amostra e 50 µL de TBA. A curva padrão foi realizada com solução de MDA 0,03 mM.

Após preparo das amostras, estas foram colocadas no banho-maria a 95°C por 60 minutos e procedida a leitura das absorvâncias.

Os resultados foram calculados pela multiplicação das médias das absorvâncias com o fator de correção, divididas pelo volume de amostra e expressos em nmol MDA/mL.

4.6.5.2 Tióis protéicos e não-protéicos (NPSH)

Para determinação dos tióis proteicos e não proteicos empregou-se a metodologia de Ellman (1959). Os tióis reagem com o 2,2'-dinitro-5,5'-ditiodibenzoico (DTNB) gerando um composto de coloração amarela, com leitura a 412 nm. Esses compostos são componentes do sistema de defesa não-enzimático.

As amostras de plasma foram avaliadas em duplicata, para determinação dos tióis proteicos pipetou-se 30 µL da amostra, 260 µL de solução tampão de fosfato de potássio monobásico e dibásico (TKF) 10% e 15 µL de DTNB. Para dosagem dos tióis não-proteicos a amostra foi desproteïnizada com 150 µL de TCA 10% e centrifugada a 2.000 rpm por 10 minutos, e a partir do sobrenadante realizou-se as análises com 40 µL da amostra, 200 µL de TKF 10% e 20 µL de DTNB. Procedeu-se o cálculo do FC de cisteína, o qual foi multiplicado pela média das absorvâncias, dividido pelo volume da amostra, os resultados foram expressos em µmol/mL de plasma.

4.6.5.3. Mieloperoxidase (MPO)

A análise da MPO foi executada através do método descrito por Suzuki et al., (1983), com leitura a 492 nm. A MPO é uma heme enzima produzida por mediadores inflamatórios e liberada dos leucócitos (linfócitos e neutrófilos) em locais de lesão, esta enzima catalisa a reação de íons de cloreto com peróxido de hidrogênio, gerando grandes quantidades de ácido hipocloroso (HOCl), que compreende uma ERO com alta capacidade reativa para formação de oxigênio singleto e do radical hidroxil. Esta técnica analítica foi executada na presença de H₂O₂ como agente oxidante, sendo que a MPO catalisou o acoplamento oxidativo de fenol e da aminoantipirina (AAP) originando o produto colorido, a quinoneimina, com uma absorvância lida em espectrofotômetro.

As amostras de plasma foram analisadas em duplicata. Pipetou-se 12 µL da amostra, 148 µL de AAP 2,5 mM e 170 µL de H₂O₂ 1,7 mM, e incubou-se as placas à 37°C por 30 minutos, procedendo após a incubação a leitura. Realizou-se o cálculo, multiplicando a média das absorvâncias

pelo FC, e os resultados foram expressos em mM de quinoneimina produzido em 30 minutos.

4.6.5.4. Conteúdo de ácido ascórbico

A análise do conteúdo de ácido ascórbico realização com base no método de Jacques-Silva et al., (2001) com leitura de absorvância em 520 nm. O ácido ascórbico, também denominado de vitamina C, possui função de antioxidante exógeno, transformando as ERO em formas inertes.

As amostras de soro foram analisadas em duplicata nas placas, pipetou-se 100 μ L de amostra, 25 μ L de água destilada, 25 μ L de TCA 13,3% e 20 μ L de 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH), incubou-se as placas a 37°C por 120 minutos. Ao final da incubação, para parar a reação pipetou-se 130 μ L de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 65%, e procedeu-se a leitura. Realizou-se o cálculo, multiplicando a média das absorvâncias pelo FC, e os resultados foram expressos em gramas/litro (g/L).

4.6.6. Avaliação do Perfil Bioquímico

Tendo como objetivo a correlação de variáveis e definição do perfil bioquímico, os indivíduos deste estudo realizaram um conjunto de exames bioquímicos complementares, que incluíram: glicemia de jejum, colesterol total e frações, triglicerídeos, aspartato aminotransferase (AST/TGO), alanina aminotransferase (ALT/TGP), creatinina, ureia e cálcio. Para estas dosagens foi empregado o procedimento analítico padronizado no laboratório em conformidade ao protocolo definido pelo fabricante dos kits comerciais utilizados, procedendo as leituras em espectrofotômetro UV/VIS 5300PC, da Metash.

4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade dos resultados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. As médias dos grupos antes e após a suplementação foram analisadas pelo teste T-Student para amostras pareadas e para aquelas que não seguiram a normalidade aplicou-se o teste de Wilcoxon, para estas análises considerou-se como H_0 que as médias das diferenças era igual a zero e como H_1 que a média das diferenças não era igual a zero. A diferença entre os grupos em relação às variáveis do estudo foram analisadas pelo teste de variância ANOVA duas-vias para os dados que seguiram a normalidade, seguido de pós-teste de Tukey e os dados que não seguiram a normalidade foram avaliados pelo teste não paramétrico de Friedman, com pós-teste de Wilcoxon corrigido por Bonferroni, para

estas análises estatísticas considerou-se como H0 que as variâncias das médias são assumidas como iguais e como H1 que há diferença entre as variâncias das médias. Os resultados dos parâmetros analisados foram expressos de forma gráfica e apresentados como média e desvio padrão. Considerou-se estatisticamente significantes as diferenças em que a probabilidade de rejeição da hipótese de nulidade foi menor que 5% ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas no software IBM® SPSS Statistic 22.0 e no software GraphPad Prism 6.0.

5. RESULTADOS

5.1. PERFIL EPIDEMIOLÓGICO

O complexo prisional de Chapecó (Unidades Agrícola e Industrial) apresentava um total de 1.384 indivíduos privados de liberdade no mês de fevereiro de 2017, conforme dados informados pela Gerência de Ensino, Saúde e Promoção Social obtidos no sistema de informações do I-Pen, sendo que o número de pacientes soropositivos em abril era composto por 18 indivíduos, representando uma taxa de prevalência de 1,3% nessa população.

O perfil dos indivíduos privados de liberdade no Complexo Prisional de Chapecó foi avaliado conforme I.C de 85% e indicou que 39,4% (I.C - 31,9-46,9%) encontravam-se na faixa etária de 18 a 29 anos, 38,6% (I.C - 31,1-46,1%) entre 30 e 39 anos e 21,5% (I.C - 14-21%) acima de 40 anos. A idade média dos pacientes soropositivos incluídos no estudo foi de 37 anos (intervalo de 26 a 66 anos), e o grupo controle apresentou idade média de 36 anos (intervalo de 20 a 59 anos), referente à faixa etária de incidência do HIV observou-se que 27,3% (I.C - 19,8-34,8%) dos indivíduos tinham entre 20 e 29 anos, 36,4% (I.C - 18,9-43,9%) entre 30 e 39 anos e 36,4% (I.C - 18,9-43,9%) apresentavam mais de 40 anos.

A variável tempo de infecção pelo HIV indicou que 36,4% (I.C - 18,9-43,9%) tiveram o diagnóstico nos últimos 3 anos, 36,4% (I.C - 18,9-43,9%) em um período de 3 a 6 anos e 27,3% (I.C - 19,8-34,8%) convivem com o vírus a mais de 6 anos, todos os entrevistados indicaram estar em utilização de HAART e não houve relato de doença associada ou medicação que alterasse o metabolismo da VD, dados comprovados com a avaliação dos prontuários. O tempo de reclusão dos indivíduos soropositivos indicou que 36,4% (I.C - 18,9-43,9%) estão reclusos a menos de 3 anos, 45,5% (I.C - 38-53%) no período de 3 a 6 anos e 18,2% (I.C - 10,7-25,7%) a mais de 6 anos. Ao relacionarmos o tempo de infecção e tempo de reclusão observou-se que 45,5% (I.C - 38-53%) dos indivíduos apresentam o diagnóstico de HIV antes de entrar no sistema prisional, 18,2% (I.C - 10,7-25,7%) foram diagnosticados na entrada pela avaliação inicial da equipe de saúde e 36,4% (I.C - 18,9-43,9%), representando 4 indivíduos, tiveram o diagnóstico no decorrer do cumprimento de sua pena de reclusão. A tabela 1 representa o perfil epidemiológico dos indivíduos HIV soropositivos avaliados no estudo.

Tabela 1 – Perfil epidemiológico dos indivíduos HIV soropositivos do Complexo Prisional de Chapecó/SC

Faixa etária de incidência do HIV	
20-29 anos	27,3% (I.C: 19,8-34,8%)
30-39 anos	36,4% (I.C: 18,9-43,9%)
>40 anos	36,4% (I.C: 18,9-43,9%)
Tempo de infecção pelo HIV	
0-3 anos	36,4% (I.C: 18,9-43,9%)
3-6 anos	36,4% (I.C: 18,9-43,9%)
>6 anos	27,3% (I.C: 19,8-34,8%)
Tempo de reclusão	
0-3 anos	36,4% (I.C: 18,9-43,9%)
3-6 anos	45,5% (I.C: 38-53%)
>6 anos	18,2% (I.C: 10,7-25,7%)
Correlação reclusão/infecção*	
Diagnóstico antes da reclusão	45,5% (I.C: 38-53%)
Diagnóstico na entrada em reclusão	18,2% (I.C: 10,7-25,7%)
Diagnóstico no durante a reclusão	36,4% (I.C: 18,9-43,9%)

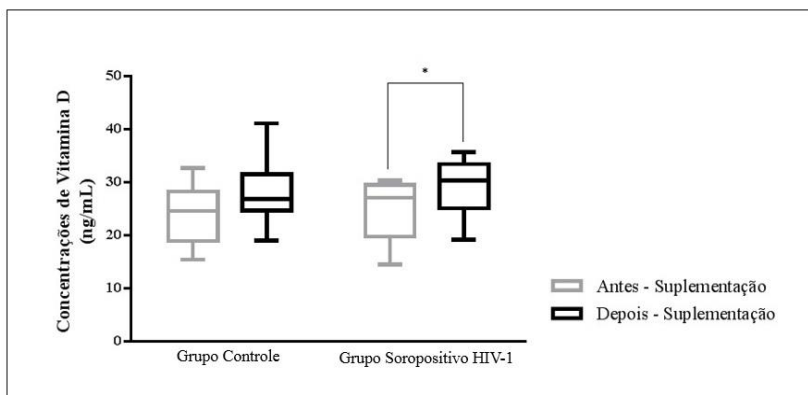
Legenda: Dados expressos em porcentagem, seguida do I.C de 85%. O asterisco indica a correlação entre tempo de infecção e tempo de reclusão com base nas informações sobre o diagnóstico fornecidas no formulário de pesquisa e obtidas no prontuário dos indivíduos HIV-1 soropositivos, n= 11.

Fonte: A autora.

5.2. CONCENTRAÇÕES DE VITAMINA D

A avaliação das concentrações de VD indicou que no período de tempo 0 a média da concentração de VD em indivíduos soropositivos foi de $25,11 \pm 5,85$ ng/mL e para indivíduos soronegativos este valor foi representado por uma concentração de $23,69 \pm 5,73$ ng/mL. Após a realização da suplementação observou-se concentrações médias de $29,04 \pm 5,43$ ng/mL e $28,22 \pm 6,55$ ng/mL, para indivíduos soropositivos e soronegativos, respectivamente, obtendo-se um aumento significativo das concentrações no grupo de pacientes com HIV, conforme dados representados no gráfico 1. A tabela 2 representa a distribuição percentual de indivíduos analisados.

Gráfico 1 – Concentrações de vitamina D antes e após o período de suplementação, nos grupos controle e soropositivo



Legenda: Dados analisados pelo teste de Friedman, com pós-teste de Wilcoxon corrigido por Bonferroni, expressos em mediana, valor máximo e valor mínimo. O asterisco indica diferença estatística $*p < 0,05$, $n = 16$ indivíduos.

Fonte: A autora.

Tabela 2- Evolução do percentual de vitamina D em relação à suplementação vitamínica

	Pré-Suplementação	Pós-Suplementação
Controle – Insuficiente (10-19,9 ng/mL)	37,5% (I.C: 30-45%)	12,5% (I.C: 5-20%)
Controle – Suficiente (>20 ng/mL)	62,5% (I.C: 55-70%)	87,5% (I.C: 80-95%)
Soropositivo – Insuficiente (10-19,9 ng/mL)	25% (I.C: 17,5-32,5%)	12,5% (I.C: 5-20%)
Soropositivo – Suficiente (>20 ng/mL)	75% (I.C: 67,5-82,5%)	87,5% (I.C: 80-95%)

Legenda: Dados expressos em porcentagem, seguida do I.C de 85%, $n = 22$.

Fonte: A autora.

5.3. CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4+ E CD8+

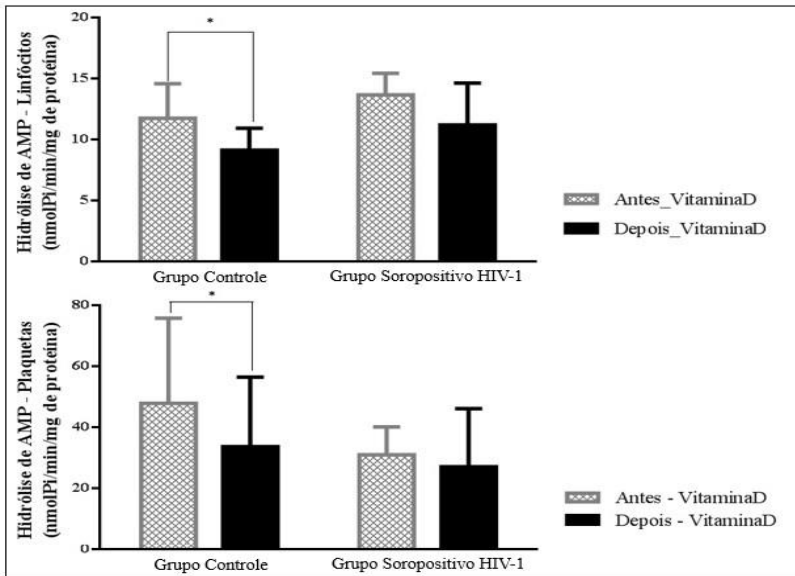
A contagem de linfócitos T CD4+ e CD8+ em indivíduos soropositivos para o HIV-1 indicou um valor médio de células T CD4+

de $248,75/\text{mm}^3$ ($\pm 220,46$) antes da suplementação e de $299,25/\text{mm}^3$ ($\pm 257,14$) após a utilização da VD. Para a contagem de células T CD8+ verificou-se valores de $1.141,50/\text{mm}^3$ ($\pm 420,57$) e $1.106,50/\text{mm}^3$ ($\pm 519,15$), antes e após a suplementação respectivamente. Essas variáveis foram avaliadas pelo teste de Friedman, não indicando diferença entre os resultados.

5.4. SISTEMA PURINÉRGICO

As análises laboratoriais do sistema purinérgico indicaram uma hidrólise significativamente diminuída do AMP na amostra de linfócitos e de plaquetas no grupo controle após a suplementação com VD. No grupo HIV soropositivo, observou-se uma tendência de diminuição da hidrólise desse substrato, indicando uma atividade diminuída da ecto-5'-nucleotidase após a suplementação com VD, conforme gráfico 2.

Gráfico 2 – Hidrólise de AMP em linfócitos e plaquetas antes e após a suplementação com vitamina D, nos grupos controle e soropositivo

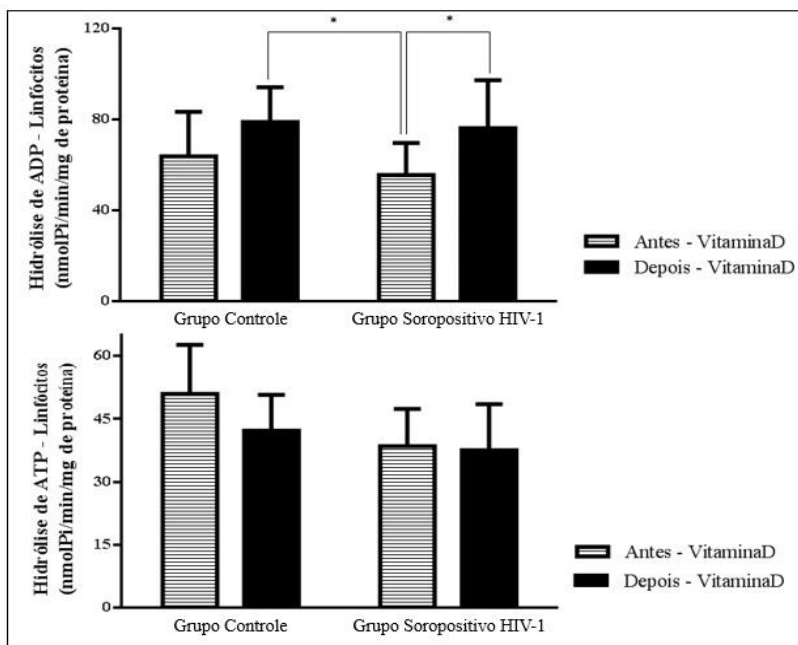


Legenda: Dados analisados teste de Friedman, com pós-teste de Wilcoxon corrigido por Bonferroni e expressos em média e desvio padrão. O asterisco indica diferença estatística $*p < 0,05$, $n = 22$. Fonte: A autora.

Em relação à hidrólise do nucleotídeo ADP, em linfócitos observa-se um aumento significativo na hidrólise desse nucleotídeo no grupo HIV soropositivo após a suplementação com VD, enquanto no grupo controle observa-se apenas uma tendência aumentada de hidrólise desse nucleotídeo. A tendência ao aumento da hidrólise do ADP também foi verificada na amostra de plaquetas após a suplementação.

Referente ao ATP observa-se uma tendência à diminuição na hidrólise desse nucleotídeo em todos os grupos avaliados após o período de suplementação. Esses dados podem ser observados nos gráficos 3 e 4.

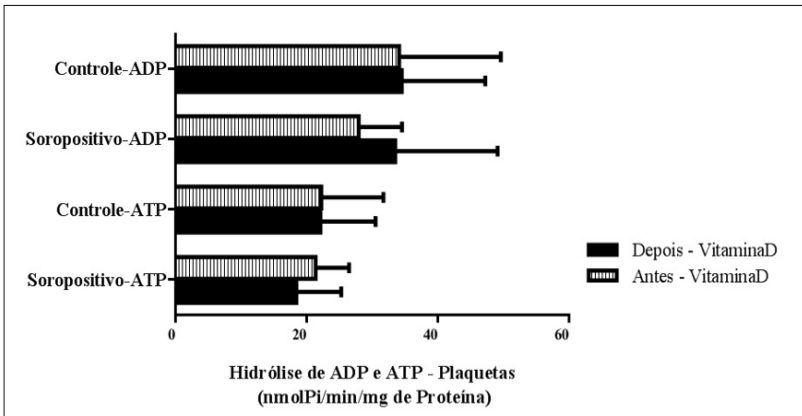
Gráfico 3 – Hidrólise de ADP e ATP em linfócitos antes e após a suplementação com vitamina D, nos grupos controle e soropositivo



Legenda: Dados analisados pelo teste de Friedman, com pós-teste de Wilcoxon corrigido por Bonferroni e expressos em média e desvio padrão. O asterisco indica diferença estatística $*p < 0,05$, $n = 22$.

Fonte: A autora.

Gráfico 4 – Hidrólise de ADP e ATP em plaquetas antes e após a suplementação com vitamina D, nos grupos controle e soropositivo

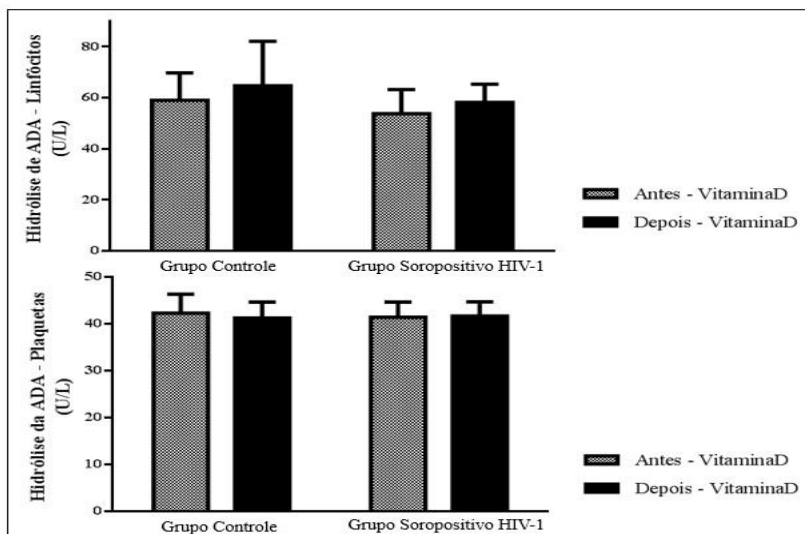


Legenda: Dados analisados pelo teste de Friedman e expressos em média e desvio padrão, n= 22.

Fonte: A autora.

A avaliação da adenosina desaminase indicou uma tendência ao aumento da hidrólise desse nucleotídeo na amostra de linfócitos dos grupos avaliados, e uma igualdade de concentrações antes e após a suplementação na amostra de plaquetas, o que pode ser observado nos gráficos 5.

Gráfico 5 – Hidrólise da ADA em linfócitos e plaquetas antes e após a suplementação com vitamina D, nos grupos controle e soropositivo



Legenda: Dados analisados pelo teste de Friedman e pelo teste Anova de 2 vias para medidas repetidas, conforme a normalidade e expressos em média e desvio padrão, n= 22.

Fonte: A autora.

5.5. PERFIL OXIDATIVO

O perfil oxidativo dos indivíduos em estudo foi avaliado pelas concentrações de indicadores de dano oxidativo, como a peroxidação lipídica por TBARS e atividade da enzima MPO, avaliou-se também componentes do sistema de defesa antioxidante, como tióis proteicos e não-proteicos e a vitamina C. O perfil oxidativo do grupo HIV soropositivo apresentou-se similar ao perfil do grupo controle e indicou não haver alterações significativas das concentrações dos componentes avaliados após a suplementação com a VD, o que pode ser observado na tabela 3.

Entretanto, o antioxidante não enzimático exógeno representado pela vitamina C, apresentou um aumento significativo de suas concentrações após o período de suplementação com a VD no grupo de pacientes soropositivos e uma tendência ao aumento das concentrações no grupo controle, conforme indicado no gráfico 6.

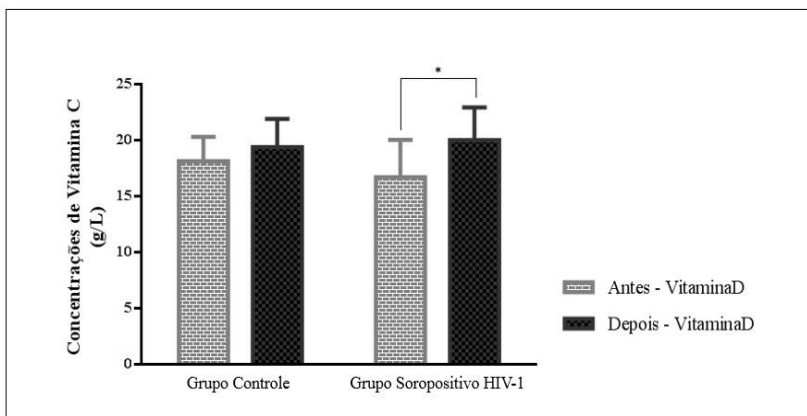
Tabela 3 – Parâmetros de perfil oxidativo em pacientes soropositivos antes e após a suplementação com vitamina D

Parâmetro	Controle Antes	Controle Depois	Soropositivo Antes	Soropositivo Depois	Valor de p
TBARS	13,23 ± 2,36	11,93 ± 2,20	12,16 ± 1,63	12,19 ± 1,24	<i>p.</i> >0,05
MPO	1,64 ± 0,26	1,68 ± 0,23	1,74 ± 0,36	1,63 ± 0,39	<i>p.</i> >0,05
Tióis Proteicos	0,45 ± 0,08	0,52 ± 0,07	0,55 ± 0,07	0,48 ± 0,09	<i>p.</i> >0,05
Tióis Não-Proteicos	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	<i>p.</i> >0,05

Legenda: Dados analisados pelo teste Anova de 2 vias pareadas e Teste de Friedman, conforme a normalidade. Unidades de medidas: TBARS – nmol MDA/mL; MPO – mM de quinoneimina produzido em 30 minutos; Tióis proteicos e não-proteicos – μmol/mL de plasma, n= 22.

Fonte: A autora.

Gráfico 6 – Concentrações de vitamina C antes e após a suplementação com vitamina D, nos grupos controle e soropositivo



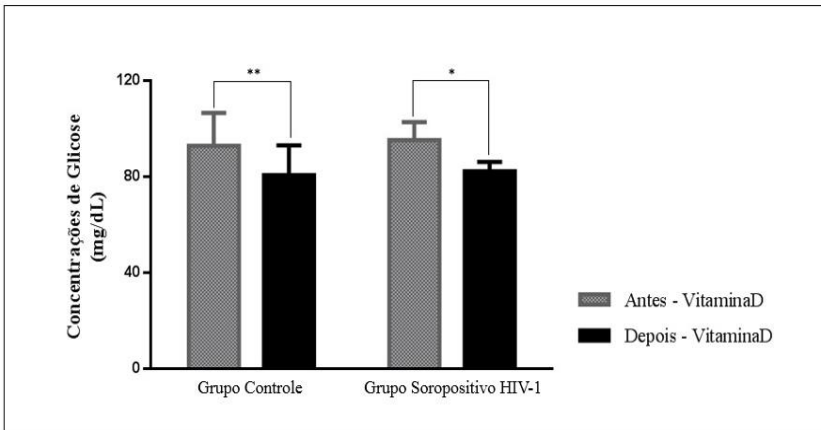
Legenda: Dados analisados pelo teste de Friedman, com pós-teste de Wilcoxon corrigido por Bonferroni e expressos em média e desvio padrão. O asterisco indica diferença estatística * $p < 0,05$, $n = 22$.

Fonte: A autora.

5.6. DOSAGENS BIOQUÍMICAS

Com relação aos parâmetros bioquímicos analisados observou-se diferenças significativas antes e após a suplementação de VD com relação às dosagens de glicose, obtendo-se um valor de $p < 0,05$ para o grupo HIV soropositivo e $p < 0,01$ para o grupo controle, conforme representado no gráfico 7. As demais análises laboratoriais são representadas em média e desvio padrão na tabela 4, nas quais observou-se uma diferença significativa no grupo controle com relação a variável creatinina e no grupo soropositivo com relação a variável colesterol LDL, com valor de $p < 0,05$.

Gráfico 7 – Concentrações de glicose antes e após a suplementação com vitamina D, nos grupos controle e soropositivo



Legenda: Dados analisados pelo teste de Friedman, com pós-teste de Wilcoxon corrigido por Bonferroni e expressos em média e desvio padrão.. Os asteriscos representam o valor de $*p < 0,05$ e $**p < 0,01$, $n = 22$.

Fonte: A autora.

Tabela 4 – Concentrações médias dos parâmetros bioquímicos analisados nos grupos controle e soropositivo, antes e após a suplementação com vitamina D

Parâmetro	Controle Antes	Controle Depois	Soropositivo Antes	Soropositivo Depois	Valor de p
Colesterol Total	185,87 ± 32,34	172,06 ± 23,95	190,9 ± 45,67	181,46 ± 37,84	<i>p.</i> >0,05
Colesterol HDL	31,77 ± 7,05	33,82 ± 9,94	36,54 ± 8,85	43,12 ± 16,91	<i>p.</i> >0,05
Colesterol LDL	122,95 ± 24,25	107,4 ± 23,27*	128,58 ± 40,65	109,69 ± 26,06	* <i>p.</i> <0,05
Colesterol VLDL	31,15 ± 16,96	31,08 ± 19,19	25,78 ± 17,55	28,65 ± 16,92	<i>p.</i> >0,05
Triglicerídeos	155,76 ± 84,87	155,37 ± 95,99	128,97 ± 87,70	143,24 ± 84,58	<i>p.</i> >0,05
Creatinina	1,26 ± 0,40	1,31 ± 0,34	1,43 ± 0,23	1,27 ± 0,22*	* <i>p.</i> <0,05
Cálcio	9,54 ± 0,76	9,93 ± 0,43	9,63 ± 0,85	9,97 ± 0,88	<i>p.</i> >0,05
AST/TGO	18,44 ± 5,09	17,84 ± 4,58	19,68 ± 6,05	19,06 ± 5,03	<i>p.</i> >0,05
ALT/TGP	22,09 ± 11,24	22,86 ± 9,54	22,69 ± 10,59	18,94 ± 7,30	<i>p.</i> >0,05

Legenda: Os resultados foram expressos em média e desvio padrão, sendo a unidade de medida representada em mg/dL. O asterisco indica que houve diferença estatística no parâmetro avaliado, onde **p*<0,05, conforme teste T-Student e teste de Wilcoxon, n= 22.

Fonte: A autora.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a taxa de prevalência de pacientes soropositivos em um complexo prisional do oeste catarinense localizado no município de Chapecó, indicando uma taxa de 1,3% de pacientes soropositivos, dado que se apresenta menor que a taxa estadual de 2,1% e maior que a taxa nacional de 1,21%, conforme dados de prevalência do DEPEN de 2014, relata-se que a prevalência na população em geral é representada por taxas de 0,39%. Estes dados relatam a vulnerabilidade da população prisional.

O número de indivíduos soropositivos também representa um percentual menor do que o encontrado por Felisberto e colaboradores (2016) em estudo realizado no complexo prisional de Florianópolis – SC, os quais obtiveram uma taxa de 2,1% (I.C 95% - 0,4-5,8%) de soropositivos entre os indivíduos analisados.

As concentrações de VD e a verificação de sua restauração após a suplementação vitamínica indicaram a redução do percentual de indivíduos com concentrações insuficientes em ambos os grupos, compreendendo uma restauração dos níveis séricos desse componente com um aumento significativo no grupo de pacientes soropositivos, sugere-se que o grupo controle não apresentou um resultado significativo devido a dispersão dos dados.

As novas diretrizes da SBPC/ML e SBEM indicam que concentrações acima de 20 ng/mL são consideradas desejáveis para a população geral saudável, e que valores entre 30-60 ng/mL são recomendados para grupos de risco, como idosos, gestantes, pacientes com osteomalácia, raquitismos, osteoporose, hiperparatireoidismo secundário, doenças inflamatórias, doenças autoimunes, doença renal crônica e pré-bariátricos (SBEM, 2017). Apesar do grupo HIV soropositivo não estar incluído nestes grupos de risco vários autores têm indicado uma associação das baixas concentrações de VD com um pior prognóstico para esses pacientes, conforme citado nos estudos de Ezeamama et al. (2015), Theodorou et al. (2014), Shepherd et al. (2014), Havers et al. (2014), Canuto et al. (2015) e Coelho et al. (2015).

Ressalta-se que as comparações entre estudos com VD em indivíduos HIV soropositivos realizadas nessa discussão apresentam o viés dos estudos citados considerarem os antigos valores de referência, onde concentrações entre 30-100 ng/mL eram consideradas suficientes, entre 20-29,9 ng/mL eram insuficientes e aquelas abaixo de 20 ng/mL eram deficientes.

Ezeamama e colaboradores (2015) executaram um ensaio randomizado placebo-controlado com suplementação de VD e outros micronutrientes (vitaminas do complexo B, vitamina C e E) pelo período de 6 meses na Uganda, em HIV soropositivos e indicaram um percentual inicial de 60% dos indivíduos com insuficiência de VD e 17% com deficiência deste micronutriente, percentuais maiores que os obtidos em nosso estudo. A realização da suplementação possibilitou a restauração das concentrações da vitamina e melhorou a contagem de células T CD4+.

Na Bélgica, Theodorou e colaboradores (2014) confirmaram em seu estudo que a hipovitaminose D é comum em pacientes infectados pelo HIV, com prevalência de 89,2%. Sales (2014) analisou 98 indivíduos soropositivos para o HIV atendidos no Ambulatório do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo, e verificou que 66 e 72%, dos indivíduos do gênero feminino e masculino respectivamente, apresentaram concentrações abaixo da normalidade. Estes trabalhos indicaram percentuais mais elevados que nosso estudo.

Shepherd e pesquisadores (2014), a partir de dados da EuroSIDA, verificaram que não houve correlação significativa entre a concentração de VD e a apresentação de eventos relacionados a AIDS, porém observaram que a mortalidade de indivíduos soropositivos para o HIV diminuiu em 46% com o aumento de duas vezes na concentração de 25-u(OH)D, indicando a presença de correlação entre indivíduos soropositivos com baixo índice de VD e a taxa de mortalidade em curto prazo.

Havers e colaboradores (2014) realizaram um estudo de coorte em 8 países em desenvolvimento (incluindo o Brasil) e nos EUA, para avaliação da prevalência e fatores de risco para mortalidade associados as baixas concentrações de VD em indivíduos soropositivos, obtendo como resultado uma taxa variável de prevalências, de 27% no Brasil e 78% na Tailândia. Os dados analisados também indicaram um maior risco de progressão da doença e de morte nos participantes com menores concentrações de VD.

Outro resultado semelhante corresponde ao de Canuto e pesquisadores (2015), que identificaram presença de 24% de hipovitaminose D em uma população HIV de Maceió (AL), sendo deste total 22,4% com insuficiência de VD, e 1,6% com deficiência. Os autores também relataram associação entre as concentrações inadequadas de VD e diversas complicações em pacientes HIV soropositivos.

Em nosso estudo a restauração das concentrações de VD possibilitou que 87,5% (I.C 85% - 80-95%) dos indivíduos apresentassem uma concentração ideal desse micronutriente após a suplementação.

Esses resultados são similares ao do estudo realizado por Coelho e colaboradores (2015), no Rio de Janeiro, que realizou suplementação com altas dosagens de VD em pacientes HIV soropositivos, utilizando 50.000 UI duas vezes na semana por 5 semanas, seguido de 8.000 UI duas vezes na semana até completar 24 semanas. Ao final da pesquisa os autores verificaram a recuperação de 83% dos indivíduos para concentrações normais do micronutriente e observaram também uma melhora na contagem de células T CD4+.

A análise do sistema purinérgico para avaliação da atividade das ectoenzimas foi realizado em nosso estudo pela avaliação da hidrólise dos nucleotídeos de adenina (ATP, ADP e AMP) e do nucleosídeo de adenosina em amostras de linfócitos e plaquetas. Não obtivemos diferenças significativas nos parâmetros analisados ao compararmos os indivíduos HIV soropositivos e controles, porém obtivemos resultados significativos após a suplementação com a VD.

A avaliação da hidrólise do ATP e ADP indicaram uma tendência a maior atividade da NTPDase com preferência pelo substrato de ADP. O estudo de Rezer e colaboradores (2007) caracterizou as NTPDases em linfócitos de pacientes HIV soropositivos avaliando a atividade em substratos de ATP e ADP, e indicaram uma associação deste grupo de ectoenzimas com melhora da resposta imune.

O nucleotídeo AMP apresentou hidrólise diminuída após a suplementação com VD nas amostras de linfócitos e plaquetas em todos os grupos estudados, sendo que essa diminuição significativa ($p < 0,05$) no grupo controle indica uma menor atividade da enzima ecto-5'-nucleotidase. A hidrólise da adenosina apresentou uma leve tendência ao aumento após a suplementação com a VD nas amostras de linfócitos em ambos os grupos e na amostra de plaquetas no grupo soropositivo, indicando nesses grupos uma atividade aumentada da ADA na hidrólise da adenosina em seu metabólito inativo, a inosina.

Os resultados obtidos nesse estudo referente à atividade diminuída da ecto-5'-nucleotidase e uma tendência ao aumento da atividade da ADA indicam uma menor transformação de AMP em adenosina e uma tendência a maior hidrólise da adenosina em inosina, indicador este de uma menor quantidade de adenosina circulante.

A provável diminuição da adenosina circulante é de grande relevância na patogênese do HIV, pois esse nucleosídeo é amplamente reconhecido como uma molécula imunossupressora, podendo assim ocasionar quando presente em quantidades elevadas uma imunossupressão celular mais acentuada (ANTONIOLOI et al., 2013; BURNSTOCK; BOEYNAEMS, 2014; DI VIRGILIO; VUERICH,

2015).

A adenosina exerce uma diversidade de efeitos nos tipos celulares com receptores CD4+, incluindo efeito inibitório sobre os macrófagos (LINK et al., 2000; PEREZ-ASO et al., 2013). Em linfócitos esse nucleosídeo ocasiona a inibição da proliferação celular e está associada à falta de resposta imune em casos de deficiência da ADA (FISHMAN et al., 1980; DJALDETTI; MOROZ, 1982; APASOV et al., 2000; ARMSTRONG et al., 2001; BESSLER; BURNSTOCK; BOEYNAEMS, 2014). Nas DCs a alta atividade da ADA possibilita a manutenção destas células em estado ativo (DESROSIERS et al., 2007). Esses achados corroboram com o nosso estudo indicando a importância de diminuir as concentrações de adenosina circulante, o que foi verificado com a terapia de suplementação vitamínica utilizando como micronutriente a VD.

A avaliação dos componentes de perfil oxidativo em nossa pesquisa não demonstrou diferenças significativas dos compostos pró- e antioxidantes entre os indivíduos controle e soropositivos o que pode estar relacionado ao fato de que a maioria dos indivíduos do estudo possuem o diagnóstico do HIV em um período inferior a 6 anos indicando que ativação do sistema imunológico ainda não apresenta a cronicidade característica da produção de ERO, observou-se também que não houve alterações após a suplementação com a VD sugerindo que esse composto permite uma preservação do perfil oxidativo,

O antioxidante exógeno ácido ascórbico (vitamina C) apresentou um aumento após o período de suplementação, este aumento encontra associação com a composição dietética dos indivíduos e sugere-se uma possível atuação do micronutriente administrado como componente coadjuvante permitindo uma maior absorção da vitamina C, indicando uma melhora da capacidade antioxidante após o período de suplementação. Indica-se que a dosagem de um número maior de marcadores pró- e antioxidantes permitiriam uma melhor e mais completa avaliação dos indivíduos em estudo.

Um número crescente de artigos e pesquisas demonstram as correlações entre a infecção ocasionada pelo HIV e o desenvolvimento de estresse oxidativo devido à ativação crônica do sistema imunológico, havendo apenas a indicação de alguns parâmetros em que não ocorre diferenças entre os grupos controle e HIV soropositivos, o que evidencia a sugestão de dosagem de um maior número de marcadores para avaliação oxidativa (WATANABE et al., 2015; IVANOV et al., 2016).

Tasca e colaboradores (2017) avaliaram marcadores de estresse oxidativo em indivíduos HIV soropositivos com idade de 20 a 50 anos na região de Botucatu (SP) antes e após a utilização da HAART. Os autores

observaram uma diminuição na capacidade antioxidante total e um maior dano ao DNA devido ao uso dos antirretrovirais, porém ao relacionar a concentração de MDA, como indicador de peroxidação lipídica, não foi observada alterações de concentração após a utilização da HAART, sendo que não houve diferenças nesse componente também na comparação entre o grupo com contagens de células T CD4+ < e >500 células/mm³.

Rajopadhye e colegas (2015) realizaram um estudo com pacientes soropositivos para o HIV atendidos em uma unidade hospitalar de Mumbai (Índia), com o objetivo de avaliar marcadores pró- e antioxidantes correlacionados com as contagens de linfócitos T CD4+. Os pesquisadores observaram diminuição de alguns indicadores antioxidantes e aumento dos marcadores pró-oxidantes, porém os parâmetros TBARS e SOD, apresentaram concentrações similares nos grupos testes e no grupo controle soronegativo.

Von Diemen (2013) em seu estudo realizado em Porto Alegre (RS) avaliou entre outros indicadores, as concentrações de TBARS em pacientes HIV soropositivos relacionando a utilização de crack, o autor não observou diferença significativa no parâmetro de peroxidação lipídica ao comparar o grupo teste com os indivíduos controle, conforme observado em nossa pesquisa.

No presente estudo realizou-se dosagens bioquímicas antes e após a suplementação com VD nos grupos controle e HIV soropositivo e a maioria dos parâmetros analisados não apresentaram alterações significativas, indicando que a patologia ocasionada pelo HIV não está relacionada a alterações bioquímicas no grupo estudado, sendo que a suplementação com VD também não apresentou influência sobre estes marcadores, entretanto ressalta-se que marcadores hepáticos representados pela AST e ALT, os quais são utilizados como indicadores de toxicidade, não apresentaram alterações indicando que a utilização da VD não ocasionou toxicidade aos indivíduos. Observou-se um resultado significativo referente ao parâmetro de glicemia de jejum, indicando que após a suplementação ocorre uma diminuição nesta dosagem nos grupos soropositivo ($p < 0,005$) e controle ($p < 0,001$), observando-se que a VD apresentou redução da glicemia independente do paciente ser HIV soropositivo, sugere-se uma associação micronutriente com uma maior secreção de insulina.

Estudos tem demonstrado resultados similares, Pham e colaboradores (2012) realizaram um estudo transversal na população saudável japonesa, incluindo 494 indivíduos e verificaram que as concentração de insulina e glicemia de jejum eram inversamente proporcionais as concentrações de VD. Luca et al., (2000) demonstrou

em cultivo celular que o metabólito calcitriol ocasionava um estímulo da secreção de insulina.

Aljabri e colegas (2010) realizaram suplementação vitamínica, em pacientes diabéticos tipo 01 e obtiveram um melhor controle glicêmico após o período de 12 semanas. Lee *et al.* (2017) também verificaram um melhor controle glicêmico após suplementação vitamínica em indivíduos com diabetes tipo 02.

Ao analisarmos o conjunto de resultados obtidos nesse estudo e os objetivos propostos pode-se indicar a obtenção de resultados benéficos utilizando a suplementação de VD. A dosagem utilizada permitiu a restauração das concentrações e a diminuição do percentual de indivíduos com hipovitaminose, sendo este um indicador favorável aos indivíduos em estudo devido às inúmeras funções biológicas desempenhadas por esse micronutriente. Os parâmetros analisados permitiram avaliar os componentes do sistema purinérgico indicando um resultado diferencial após a suplementação com a VD, sendo que a diminuição da atividade das ectoenzimas purinérgicas é um fator relevante para indivíduos HIV soropositivo podendo apresentar-se associada a diminuição da imunossupressão, indicando a importância da utilização desse micronutriente como modulador dessa sinalização, conduzindo a uma melhor resposta imunológica. A análise do perfil oxidativo e das células imunes T CD4+ e CD8+ não mostraram diferenças significativas entre os grupos e tempos estudados, o que pode estar relacionado ao baixo número de indivíduos participantes e com a dose e período de suplementação. Os resultados favoráveis desse estudo, principalmente referente a tendência a diminuição das concentrações de adenosina e a diminuição das concentrações de glicose após a suplementação indicam que a VD possui propriedades biológicas relevantes para atuação como terapêutica complementar a terapia antirretroviral.

7. CONCLUSÕES

Conclui-se a presente pesquisa com os seguintes apontamentos:

- O percentual de indivíduos soropositivos para o HIV no complexo prisional (1,3%) indicou taxas de prevalência maiores que as taxas em unidades prisionais nacionais (1,21%), relatando a vulnerabilidade desse grupo populacional.

- A quantificação das concentrações de VD indicaram uma restauração deste micronutriente fazendo com que 87,5% (I.C 85%: 80-95%) dos indivíduos dos grupos controle e soropositivo obtivessem concentrações dentro da normalidade após a administração do composto.

- A avaliação dos componentes do sistema purinérgico indicou uma maior atividade da ectoenzima NTPDase com preferência pelo substrato de ADP, e uma menor atividade da ecto-5'-nucleotidase, indicando uma diminuição das concentrações de adenosina circulante. Dado relevante pois o nucleosídeo adenosina apresenta propriedades imunossupressoras, sendo que concentrações elevadas do mesmo indicam uma maior imunossupressão nestes indivíduos que já possuem o sistema imunológico comprometido.

- Os parâmetros do perfil oxidativo da população estudada não apresentaram diferenças significativas ao relacionarmos os grupos e tempos de estudo. Observou-se um aumento das concentrações de ácido ascórbico, o que pode estar relacionado com a condição nutricional ofertada aos pacientes e uma possível associação da VD como coadjuvante na absorção deste composto.

- O presente estudo não obteve diferenças significativas em relação a contagem de células T CD4+ e T CD8+.

- Observou-se entre os parâmetros bioquímicos avaliados, um diminuição das concentrações de glicose em ambos os grupos, indicando uma provável associação da VD com aumento da secreção de insulina.

- Indica-se que os resultados obtidos nesse estudo possam ser utilizados como indicadores para elaboração de políticas públicas e estratégias de terapêutica coadjuvante e de intervenção à população privada de liberdade.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, ANDREW H. PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Imunologia Básica: Funções e distúrbios do sistema imunológico**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

ABBAS, S. et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of postmenopausal breast cancer - Results of a large case-control study. **Carcinogenesis**, v. 29, n. 1, p. 93–99, 2008.

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, ANDREW H. PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015

ABBRACCHIO, M. P.; BURNSTOCK, G. Purinoceptors: Are there families of P2X and P2Y purinoceptors? **Pharmacology and Therapeutics**, v. 64, n. 3, p. 445–475, 1994.

AGUILAR-JIMÉNEZ, W. et al. Participación de la vitamina D en la patogénesis de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1. **Infectio Asociación Colombiana de Infectología**, v. 17, n. 3, p. 146–152, 2013.

ALFADDA, A. A.; SALLAM, R. M. Reactive oxygen species in health and disease. **National Medical Journal of India**, v. 13, n. 6, p. 304–310, 2012.

ALJABRI, K. S.; BOKHARI, S. A.; KHAN, M. J. Glycemic changes after vitamin D supplementation in patients with type 1 diabetes mellitus and vitamin D deficiency. **Ann Saudi Med**, v. 30, n. 6, p. 454–458, 2010.

ANTONIOLI, L. et al. CD39 and CD73 in immunity and inflammation. **Trends in Molecular Medicine**, v. 19, n. 6, p. 355–367, 2013.

APASOV, S. G. et al. Study of A(2A) adenosine receptor gene deficient mice reveals that adenosine analogue CGS 21680 possesses no A(2A) receptor-unrelated lymphotoxicity. **British journal of pharmacology**, v. 131, n. 1, p. 43–50, 2000.

- ARMSTRONG, J. M. et al. Gene dose effect reveals no Gs-coupled A2A adenosine receptor reserve in murine T-lymphocytes: studies of cells from A2A-receptor-gene-deficient mice. **The Biochemical journal**, v. 354, n. Pt 1, p. 123–130, 2001.
- ASSIS, R. D. DE. A realidade atual do sistema penitenciário brasileiro. **Revista CEJ**, v. 11, n. 39, p. 74–78, 2007.
- AZIZ, M. et al. Vitamin D insufficiency may impair CD4 recovery among Women's Interagency HIV Study participants with advanced disease on HAART. **AIDS**, v. 20, n. 4, p. 573–578, 2013.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutricao**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.
- BARNARD, E. A.; BURNSTOCK, G.; WEBB, T. E. G protein-coupled receptors for ATP and other nucleotides: a new receptor family. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 15, n. 3, p. 67–70, 1994.
- BARRÉ-SINOUSSE, F. et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, v. 220, p. 868–871, 1983.
- BARRÉ-SINOUSSE, F. HIV: A discovery opening the road to novel scientific knowledge and global health improvement. **Virology**, v. 397, p. 255–259, 2010.
- BARRÉ-SINOUSSE, F.; ROSS, A. L.; DELFRAISSY, J.-F. Past, present and future: 30 years of HIV research. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, p. 877–883, 2013.
- BAUER, M. E.; DE LA FUENTE, M. The role of oxidative and inflammatory stress and persistent viral infections in immunosenescence. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 158, p. 27–37, 2016.
- BESSLER, H.; DJALDETTI, M.; MOROZ, C. The regulatory role of adenosine-activated T-lymphocyte subset on the immune response in humans. I. Mitogenic response and production of mediators. **Cellular**

Immunology, v. 73, n. 2, p. 216–229, 1982.

BHAT, M.; ISMAIL, A. Vitamin D treatment protects against and reverses oxidative stress induced muscle proteolysis. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 152, p. 171–179, 2015.

BOURS, M. J. et al. Adenosine 5'-triphosphate and adenosine as endogenous signaling molecules in immunity and inflammation. **Pharmacology & Therapeutics** **112**, v. 112, p. 358–404, 2006.

BÖYUM, A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. **Scand J Clin Lab Invest Suppl**, v. 97, p. 77–89, 1968.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v. 72, p. 248–254, 1976.

BRASIL. **Constituição**. República Federativa do Brasil. Brasília, DF: Senado Federal: 1988.

_____. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em crianças e adolescentes. **Ministério da Saúde**, p. 217, 2014a.

_____. Informações Penitenciárias IFOPEN -Junho 2014. **Ministério da Justiça**: p. 148, 2014b.

_____. Portaria Interministerial nº 01, de 02 de janeiro de 2014: Instituição da PNAISP. **Ministério da Justiça e Ministério da Saúde**: Diário Oficial da União, 2014c.

_____. Legislação em Saúde no Sistema Prisional. **Ministério da Saúde**, 2014d.

_____. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS. **Ministério da Saúde**: Secretaria de Vigilância à Saúde, v. 1, p. 1–100, 2015.

_____. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS. **Ministério da Saúde**: Secretaria de Vigilância à Saúde, v. 1, p. 1-90, 2016

BURNSTOCK, G. Purinergic nerves. **Pharmacolo**, v. 24, p. 509–581, 1972.

_____. The past, present and future of purine nucleotides as signalling molecules. **Neuropharmacology**, v. 36, n. 9, p. 1127–1139, 1997.

_____. Historical review: ATP as a neurotransmitter. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 27, n. 3, p. 166–176, 2006a.

_____. Purinergic signalling. **Journal of Pharmacology**, v. 147, n. 1, p. 172–181, 2006b.

_____. **Purinergic Neurotransmission**. 2^a ed. Primer on the Autonomic Nervous System: Londres, n. 14, p. 60–65, 2009.

BURNSTOCK, G.; BOEYNAEMS, J. M. Purinergic signalling and immune cells. **Purinergic Signalling**, v. 10, n. 4, p. 529–564, 2014.

CANUTO, J. M. P. et al. Risk factors associated with hypovitaminosis D in HIV/aids-infected adults. **Archives of endocrinology and metabolism**, v. 59, n. 1, p. 34–41, 2015.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, n. 1, p. 15–25, 2013.

CASTRO, L. C. G. DE. O sistema endocrinológico vitamina D. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 55, n. 8, p. 566–575, 2011.

CASUNO, N.; THYS-JACOBS, S.; BILEZIKIAN, J. **Hypercalcemia Due to Vitamin D Toxicity**. In Vitamin D. 3^a ed., Elsevier, 2011.

CDC, Center for Disease Control. Kaposi's Sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men. New York. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v. 30, p. 305–308, 1981.

CLIFORD, J.; ROSEN, M. D. Vitamin D Insufficiency. **N Engl J Med** 2011, v. 364, p. 248–254, 2011.

COELHO, L. et al. Vitamin D3 supplementation in HIV infection: effectiveness and associations with antiretroviral therapy. **Nutrition journal**, v. 14, n. 81, p. 1–9, 2015.

COUSSENS, A. K. et al. High-dose vitamin D3 reduces deficiency caused by low UVB exposure and limits HIV-1 replication in urban Southern Africans. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 26, p. 8052–8057, 2015.

CULOTTA, V. C. Superoxide dismutase, oxidative stress, and cell metabolism. **Current Topics in Cellular Regulation**, v. 36, p. 117–132, 2000.

DEEKS, S. G. et al. HIV infection. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 1, p. 01–22, 2015.

DESROSIERS, M. D. et al. Adenosine Deamination Sustains Dendritic Cell Activation in Inflammation. **The Journal of Immunology**, v. 179, n. 3, p. 1884–1892, 2007.

DI VIRGILIO, F.; VUERICH, M. Purinergic signaling in the immune system. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 191, p. 117–123, 2015.

DI VIRGILIO, F. DI; ANDREA BOREA, P.; ILLES, P. P2 receptors meet the immune system. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 22, n. 1, p. 5–7, 2001.

ELLMAN, G. L. Tissue Sulfhydryl Groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 82, p. 70–77, 1959.

EZEAMAMA, A. E. et al. Vitamin-D deficiency impairs CD4+T-cell count recovery rate in HIV-positive adults on highly active antiretroviral therapy: A longitudinal study. **Clinical Nutrition**, p. 1–8, 2015.

FELISBERTO, M. et al. Prevalence of human immunodeficiency virus infection and associated risk factors among prison inmates in the city of Florianópolis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. 5, p. 620–623, 2016.

FISHMAN, R. F. et al. Selective suppression of blastogenesis induced

by different mitogens: Effect of noncyclic adenosine-containing compounds. **Cellular Immunology**, v. 54, n. 1, p. 129–139, 1980.

FORMAN, H. J.; URSINI, F.; MAIORINO, M. An overview of mechanisms of redox signaling. **J Mol Cell Cardiol**, v. 25, n. 8, p. 713–724, 2014.

GIUSTI, G.; GALANTI, B. Adenosine deaminase: colorimetric method. **In HU Bergmeyer, Methods of Enzymatic Analysis**, v. 4, p. 315–323, 1984.

GURDASANI, D. et al. A systematic review of definitions of extreme phenotypes of HIV control and progression. **AIDS (London, England)**, v. 28, n. 2, p. 149–62, 2014.

HANSEN, K. R. et al. Isolation and characterization of the promoter of the human. **Science**, v. 67, n. 95, p. 307–312, 1995.

HAVERS, F. et al. 25-hydroxyvitamin D insufficiency and deficiency is associated with HIV disease progression and virological failure post-antiretroviral therapy initiation in diverse multinational settings. **Journal of Infectious Diseases**, v. 210, n. 2, 2014.

IVANOV, A. V. et al. Oxidative Stress during HIV Infection: Mechanisms and Consequences. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, n. 2, p. 1–18, 2016.

JACQUES-SILVA, M. . et al. Diphenyl diselenide and ascorbic acid changes deposition of selenium and ascorbic acid in liver and brain of mice. **Pharm. Toxicol.**, v. 88, p. 119–125, 2001.

JAQUES, J. A. D. S. et al. A method for isolation of rat lymphocyte-rich mononuclear cells from lung tissue useful for determination of nucleoside triphosphate diphosphohydrolase activity. **Analytical Biochemistry**, v. 410, n. 1, p. 34–39, 2011.

JENTZSCH, A M. et al. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 2, p. 251–256, 1996.

JOHNSON, F.; GIULIVI, C. Superoxide dismutases and their impact

upon human health. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, n. 4–5 SPEC. ISS., p. 340–352, 2005.

JÜRGENS, R.; NOWAK, M.; DAY, M. HIV and incarceration: Prisons and detention. **Journal of the International AIDS Society**, v. 14, n. 1, p. 26, 2011.

LASHLEY, F. R. Transmission and Epidemiology of HIV/AIDS: a Global View. **Nursing Clinics of North America**, v. 41, n. 3, p. 339–354, 2006.

LEAL, D. B. R. et al. Characterization of NTPDase (NTPDase1; Ecto-apyrase; ecto- diphosphohydrolase; CD39; EC 3.6.1.5) activity in human lymphocytes. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 1721, n. 1–3, p. 9–15, 2005.

LEE, C. J. et al. The effect of vitamin D supplementation on glucose metabolism in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis of intervention studies. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 31, n. 7, p. 1115–1126, 2017.

LERMA-CHIPPIRAZ, E. et al. Validation Protocol of Vitamin D Supplementation in Patients with HIV-Infection. **AIDS Research and Treatment**, v. 2016, p. 1–8, 2016.

LINK, A. A. et al. Ligand-Activation of the Adenosine A2a Receptors Inhibits IL-12 Production by Human Monocytes. **The Journal of Immunology**, v. 164, n. 1, p. 436–442, 2000.

LONGENECKER, C. T. et al. Vitamin D supplementation and endothelial function in vitamin D deficient HIV-infected patients: a randomized placebo-controlled trial. **Antivir Ther**, v. 17, n. 4, p. 613–621, 2012.

LUCA, G. et al. Effects of anti-oxidizing vitamins on in vitro cultured porcine neonatal pancreatic islet cells. **Diabetes Nutr. Metab.**, v. 13, n. 6, p. 301–7, 2000.

LUNKES, G. I. et al. Enzymes that hydrolyze adenine nucleotides in diabetes and associated pathologies. **Thrombosis Research**, v. 109, n. 4, p. 189–194, 2003.

MAARTENS, G.; CELUM, C.; LEWIN, S. R. HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. **Lancet.**, v. 384, n. 9939, p. 258–271, 2014.

MAEDA, S. S. et al. Recomendações do Departamento de Neuroendocrinologia da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da acromegalia no Brasil. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 58, n. 5, p. 411–433, 2014.

MAERRAWI, E. I.; CARVALHO, H. B. Prevalence and risk factors associated with HIV infection, hepatitis and syphilis in a state prison of São Paulo. **International journal of STD & AIDS**, v. 26, n. 2, p. 120–127, 2015.

MAHON, B. D. et al. The targets of vitamin D depend on the differentiation and activation status of CD4 positive T cells. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 89, n. 5, p. 922–932, 2003.

MARQUES, C. D. L. et al. A importância dos níveis de vitamina D nas doenças autoimunes. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, n. 1, p. 67–80, 2010.

MARTINS, C. C. et al. Regular exercise training reverses ectonucleotidase alterations and reduces hyperaggregation of platelets in metabolic syndrome patients. **Clinica Chimica Acta**, v. 454, p. 66–71, 2016.

MEUNIER, P. J.; CHAPUY, M.-C. **Vitamin D Insufficiency in Adults and the Elderly**. 2ª ed. Lyon: Elsevier, 2005.

MONTAGNIER, L. 25 Years after HIV discovery: Prospects for cure and vaccine. **Virology**, v. 48, n. 32, p. 5815–5826, 2009.

MORA, J. R.; IWATA, M.; ANDRIAN, U. H. VON. Vitamin effects on the immune system. **Nature Review Immunology**, v. 8, n. 9, p. 685–698, 2008.

MOSS, J. A. HIV/AIDS Review. **Radiologic Technology**, v. 84, n. 3, p. 247–267, 2013.

NAIF, H. M. Pathogenesis of HIV infection. **Infectious Disease**

Reports, v. 5, n. SUPPL.1, p. 26–30, 2013.

NANJUL, G. O. Human immunodeficiency virus transmission and hemophilia. **Global View of HIV Infection**, v. 149, n. 6, p. 1379–1380, 2011.

NIKI, E. Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress? **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 595, p. 19–24, 2016.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, 1979.

OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10–36, 2015.

PEREZ-ASO, M. et al. Adenosine A2A receptor and TNF- α regulate the circadian machinery of the human monocytic THP-1 cells. **Inflammation**, v. 36, n. 1, p. 152–162, 2013.

PETERS, B. S. E.; MARTINI, L. A. Vitamina D. **International Life Sciences Institute do Brasil**, v. 2, n. 2, p. 1–64, 2014.

PHAM, N. M. et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and markers of insulin resistance in a Japanese working population. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 66, n. 12, p. 1323–1328, 2012.

PILLA, C. et al. ATP diphosphohydrolase activity (Apyrase, EC 3.6.1.5.) in human blood platelets. **Platelets**, v. 7, p. 225–230, 1996.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55–74, 2015.

PLUDOWSKI, P. et al. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-A review of recent evidence. **Autoimmunity Reviews**, v. 12, n. 10, p. 976–989, 2013.

PRIETL, B. et al. Vitamin D and immune function. **Nutrients**, v. 5, n. 7,

p. 2502–2521, 2013.

RAJOPADHYE, S.; MUKHERJEE, S.; CHOWDHARY, A. Oxidative Stress in HIV / AIDS Patients in Mumbai , India. **Journal of Immuno Virology**, v. 1, n. 1, p. 1–6, 2015.

RALEVIC, V.; BURNSTOCK, G. Receptors for purines and pyrimidines. **Pharmacolo.**, v. 50, p. 413–492, 1998.

REIS, J. S. et al. Oxidative stress: a review on metabolic signaling in type 1 diabetes. **Arq. Bras. Endocrinol Metab.**, v. 52, n. 7, p. 1096–105, 2008.

REZER, J. F. P. et al. Condições ideais de pH e temperatura para a atividade da NTPDase em linfócitos de pacientes imunodeprimidos pela infecção causada pelo HIV-1. **Disc. Scientia**, v. 8, n. 1, p. 1–9, 2007.

RUTSTEIN, R. et al. Vitamin D status in children and young adults with perinatally acquired HIV infection. **Clinical Nutrition**, v. 30, n. 5, p. 624–628, 2011.

SAFRIT, J. T. et al. Status of vaccine research and development of vaccines for HIV-1. **Vaccine**, v. 34, n. 26, p. 2921–2925, 2016.

SALES, S. B. H. **Prevalência de deficiência/insuficiência nos níveis séricos e consumo de vitamina d e cálcio em pacientes HIV**. 2014. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo: 2014.

SBEM. **Vitamina D**: Novos valores de referência. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, 2017. Disponível em: <https://www.endocrino.org.br/vitamina-d-novos-valores-de-referencia/>. Acesso em: 20 out. 2017

SCHACHTER, J. et al. Inhibition of ecto-ATPase activities impairs HIV-1 infection of macrophages. **Immunobiology**, v. 220, n. 5, p. 589–596, 2015.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 757–781, 2015.

SHEPHERD, L. et al. Prognostic value of vitamin D level for all-cause mortality, and association with inflammatory markers, in HIV-infected persons. **Journal of Infectious Diseases**, v. 210, n. 2, p. 234–243, 2014.

SIES, H. **Oxidative stress**: introductory remarks. Academic Press; London: 1985.

_____. Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. **Redox Biology**, v. 4, p. 180–183, 2015.

SIES, H.; BERNDT, C.; JONES, D. P. Oxidative Stress. **Annual Review of Biochemistry**, v. 86, p. 715–748, 2017.

SOUZA, V. DO C. G. et al. Purinergic system ecto-enzymes participate in the thromboregulation of patients with indeterminate form of Chagas disease. **Purinergic Signalling**, v. 8, n. 4, p. 753–762, 2012.

_____. Evaluation of P2X7 receptor expression in peripheral lymphocytes and immune profile from patients with indeterminate form of Chagas disease. **Microbial Pathogenesis**, v. 104, p. 32–38, 2017.

SPECTOR, A. Review: Oxidative Stress and Disease. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, v. 16, n. 2, p. 193–201, 2009.

SUZUKI, K. et al. Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. **Analytical Biochemistry**, v. 132, n. 2, p. 345–352, 1983.

TASCA, K. I. et al. Antiretroviral therapy initiation alters the redox system of asymptomatic HIV-infected individuals: A longitudinal study. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 10, 2017.

THEODOROU, M. et al. Factors associated with vitamin D deficiency in a population of 2044 HIV-infected patients. **Clinical Nutrition**, v. 33, n. 2, p. 274–279, 2014.

UNAIDS. **Ending AIDS**: Progress Towards the 90-90-90 Targets. p. 198, 2017. Disponível em:
http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/Global_AIDS_update_2017_en.pdf. Acesso em: 08 nov. de 2017

VAN ETTEN, E.; MATHIEU, C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃: basic concepts. **J Steroid Biochem Mol Biol.**, v. 97, n. 1–2, p. 93–101, 2005.

VIARD, J. P. Vitamine D et pathologies infectieuses. **Medecine Nucleaire**, v. 39, n. 5, p. 430–434, 2015.

VON DIEMEN, L. **Avaliação De Soroprevalência HCV/HIV em mulheres e de marcadores bioquímicos de toxicidade sistêmica em homens usuários de crack**. 2013. 119 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre: 2013

WANG, T. J. et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. **Circulation**, v. 117, n. 4, p. 503–511, 2008.

WATANABE, L. M. et al. Influence of HIV infection and the use of antiretroviral therapy on selenium and selenomethionine concentrations and antioxidant protection. **Nutrition**, v. 32, p. 1238–1242, 2015.

WHO. **Global summary of the HIV/AIDS epidemic, 2014**, 2015.

Disponível em:

http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/GARPR_2014_guidelines_en_0.pdf. Acesso em: 10 ago. de 2017.

WOLF, G. The discovery of vitamin D: the contribution of Adolf Windaus. **The Journal of nutrition**, v. 134, n. 6, p. 1299–1302, 2004.

YEGUTKIN, G. Nucleotide and nucleoside - converting ectoenzymes: important modulators of purinergic signalling cascade. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1783, p. 673–69, 2008.

APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

Efeitos da vitamina D sobre indicadores de resposta imune em pacientes soropositivos para o vírus da imunodeficiência humana (HIV), em uma população privada de liberdade do Oeste Catarinense.

Prezado Participante, Você está sendo convidado(a) a participar voluntariamente da pesquisa “Efeitos da vitamina D sobre indicadores de resposta imune em pacientes soropositivos para o vírus da imunodeficiência humana (HIV), em uma população privada de liberdade do Oeste Catarinense”. Desenvolvida pela colaboradora técnica administrativa da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e aluna do Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal De Santa Catarina (UFSC), Filomena Marafon, e por discente do curso da área da saúde da UFFS, campus Chapecó, sob a orientação do Professor Celso Spada da UFSC e co-orientação da Professora Margarete Dulce Bagatini da UFFS. O objetivo central desse estudo é avaliar indicadores de resposta imune, melhora da imunidade, em pacientes com HIV-1 em resposta a suplementação de vitamina D, em comparação com uma população privada de liberdade sem o vírus, tendo como objetivos específicos a avaliação da expressão e atividade de outros sistemas e comparação dos resultados. A pesquisa se justifica, pois permitirá estabelecer as concentrações de vitamina D nesta população em uma região sem estudos anteriores, correlacionando a concentração da vitamina com probabilidades de melhora imune, e correlacionando os resultados laboratoriais antes e após a suplementação, permitindo a inclusão de terapêutica complementar a estes pacientes. A escolha da população, indivíduos privados de liberdade, está associada ao fator de exposição solar controlada conforme o regime prisional, indivíduos em regime fechado representam uma população mais propensa a diminuição dos níveis de vitamina D pois possuem uma exposição diminuída aos raios ultravioletas, que é importante para síntese da vitamina D, sendo avaliada a correlação da concentração de vitamina D e a terapia antirretroviral, que está associada a diminuição destas concentrações. O convite a sua participação se deve ao atendimento aos critérios de inclusão propostos pelos autores: pacientes soropositivos para o HIV-1 em uso de terapia antirretroviral e pacientes soronegativos para o HIV-1 (grupo controle); demais critérios de inclusão compreendem o gênero masculino, com idade superior a 18 anos e inferior a 40 anos, que apresentem hipovitaminose D e se encontram privados de liberdade em

Unidades Prisionais do Oeste Catarinense, pacientes soropositivos atendidos pelo Hospital DIA Municipal de Chapecó. Sua participação não é obrigatória e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como desistir da colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação e sem nenhuma forma de penalização. Você não será penalizado de nenhuma maneira caso decida não consentir sua participação, ou desista da mesma. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa. Você não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária. Esclarecemos também que, apenas os pesquisadores que assinam este documento, terão acesso aos dados das análises de seu sangue, e todas as precauções serão tomadas para manter sigilo absoluto sobre seu nome e respectivos dados. No entanto, sempre existe o risco remoto de que ocorra quebra de sigilo e anonimato, mesmo que seja intencional e involuntário, caso isso ocorra, as consequências serão tratadas de acordo com a resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde. Esclarecemos também, que teremos acesso e ao seu prontuário médico para obtenção de dados relacionados a presença de doenças crônicas ou oportunistas (diagnosticadas nos últimos 6 meses), utilização de medicação contínua e resultados laboratoriais anteriores. Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações por você prestadas. Qualquer dado que possa identificá-lo será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa e o material armazenado em local seguro. A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo. A sua participação consistirá em responder a um formulário com dados de identificação, socioeconômicos e outras informações relevantes. Você será submetido a exame físico que inclui pesagem, medida de altura e aferição da pressão arterial, e a análises laboratoriais, para estes você concederá a pesquisadora uma amostra de aproximadamente dez (10) ml de sangue, durante coleta realizada na Unidade Prisional o questionário, as análises físicas e laboratoriais serão procedidas antes e após a suplementação (tempos 0 e 90 dias). Ao final da pesquisa, todo material será mantido em arquivo, físico ou digital, por um período de cinco anos. A pesquisa será desenvolvida segundo as normas da Resolução nº. 466 de 12 de dezembro de 2012. Segundo esta resolução, qualquer pesquisa possui riscos e benefícios. Referente ao exame físico e aplicação do questionário, para evitar constrangimentos, estes serão realizados por profissionais da área da saúde, caso você não se sinta confortável com os questionamentos

poderá se abster de respondê-los. O benefício relacionado com a sua colaboração nesta pesquisa incluem o acesso aos resultados laboratoriais e orientações em caso de alguma alteração patológica, sendo estes encaminhados para atendimento especializado. Os pesquisadores procederão a devolutiva dos resultados desta pesquisa em visita presencial a unidade prisional e conversa individual com os pacientes. Existe algum risco relacionado ao desconforto, constrangimento, estresse, tonturas, mal-estar, hematomas no braço, e possível desmaio provenientes da coleta de sangue, medidas adotada pelos pesquisadores nestes casos compreendem a aferição de pressão arterial e acompanhamento até normalização, caso o mal-estar persista o paciente será encaminhado à assistência médica. No caso de hematomas será indicado ao paciente realizar compressas de água morna local para reabsorção do sangue extravasado. Existe risco associado à hipervitaminose D, a qual pode estar associada à apresentação de sintomatologia de fadiga, astenia, irritabilidade, desidratação e aumento da calcificação óssea, nestes casos você será orientado quanto aos sintomas e para realização de hidratação contínua, caso apresente algum sintoma a suplementação será suspensa e você será direcionado ao atendimento médico. Asseguramos que a coleta de sangue é realizada por profissionais capacitados e acompanhada pela pesquisadora, e você terá toda a assistência necessária caso venha se sentir desconfortável durante e momentos após a coleta de sangue, tendo plena assistência dos pesquisadores em qualquer momento que necessitar. As informações e os resultados obtidos através das análises laboratoriais, poderão ser utilizados em congressos científicos ou publicados em revistas científicas, asseguramos que jamais revelaremos seu nome, instituição ou qualquer informação relacionada a sua privacidade para que você não seja identificado. Caso concorde em participar, uma via deste termo ficará em seu poder e a outra será entregue ao pesquisador. Não receberá cópia deste termo, mas apenas uma via. Desde já agradecemos sua participação! Este documento é elaborado em duas vias, que serão devidamente preenchidas, rubricadas todas as páginas e assinadas pelos pesquisadores e por você. Uma via deste documento ficará com os pesquisadores e a outra via ficará com você. O TCLE garante seus direitos como participante da pesquisa e nela está presente o contato e o endereço dos pesquisadores, bem como do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS para quaisquer dúvidas que você venha a ter futuramente.

Eu, _____ (NOME COMPLETO)

_____ declaro que li (ou tive este documento lido por uma pessoa de confiança) e entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa, bem como, tive todos os esclarecimentos que julguei necessários sobre a pesquisa repassados pelos pesquisadores. Portanto opto por livre e espontânea vontade em participar da pesquisa. Assinatura:

_____.

Eu, Filomena Marafon, como aluna e pesquisadora, atesto que esclareci cuidadosamente a natureza e o objetivo deste estudo, os possíveis riscos e benefícios da participação no mesmo, junto ao participante, bem como comprometo-me a conduzir esta pesquisa de acordo com as leis preconizadas na Resolução 466/12 de 12/06/2012, que trata dos preceitos éticos e da proteção aos participantes dessa pesquisa. Assinatura:_____.

Eu, Celso Spada, como pesquisador responsável, atesto que esclareci cuidadosamente a natureza e o objetivo deste estudo, os possíveis riscos e benefícios da participação no mesmo, junto ao participante, bem como, comprometo-me a conduzir esta pesquisa de acordo com as leis preconizadas na Resolução 466/12 de 12/06/2012, que trata dos preceitos éticos e da proteção aos participantes dessa pesquisa. Assinatura:_____.

Eu, Margarete Dulce Bagatini, como pesquisadora responsável e coorientadora, atesto que esclareci cuidadosamente a natureza e o objetivo deste estudo, os possíveis riscos e benefícios da participação no mesmo, junto ao participante, bem como, comprometo-me a conduzir esta pesquisa de acordo com as leis preconizadas na Resolução 466/12 de 12/06/2012, que trata dos preceitos éticos e da proteção aos participantes dessa pesquisa. Assinatura:_____.

Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS:

Tel e Fax - (049) 2049-3745

E-Mail: cep.uffs@uffs.edu.br

[http://www.uffs.edu.br/index.php?](http://www.uffs.edu.br/index.php?option=com_content&view=article&id=2710&Itemid=1101&site=prop)

[option=com_content&view=article&id=2710&Itemid=1101&site=prop](http://www.uffs.edu.br/index.php?option=com_content&view=article&id=2710&Itemid=1101&site=prop)
pg

Endereço para correspondência: Universidade Federal da Fronteira Sul/UFFS – Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS, Rua General Osório, 413D – CEP: 89802-210 – Caixa Postal 181 – Centro – Chapecó – Santa Catarina – Brasil)

Local: _____ Data: ____/____/2017

CONTATOS DOS PESQUISADORES

Celso Spada – Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC; Departamento de Análises Clínicas

Endereço: Campus Universitário Trindade s/n; CEP 88040-900 Florianópolis SC

Telefone: (48)3721-9712;

e-mail: celso.spada@ufsc.br celso@ccs.ufsc.br

Margarete Dulce Bagatini – Coorientadora

Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS

Endereço: Campus Chapecó, SC 484, Km 02, s/n, Bairro

Fronteira Sul; CEP Verificar Chapecó SC

Telefone: (49) 2049-6456

e-mail: margarete.bagatini@uffs.edu.br

Filomena Marafon – Pesquisadora

Endereço: R. Raimundo Lusa 67E, Bairro Efapi Chapecó/SC, CEP:89809-617

Telefone: (49) 2049-6456;

e-mail: marafon.filo@gmail.com filomena.marafon@uffs.edu.br

APÊNDICE B – Formulário de pesquisa

Número:

(Pacientes soropositivos – Perguntas 1 a 19; Pacientes soronegativos – Perguntas 1 a 13)

1. Nome:

2. Data de Nascimento:

3. Idade:

4. Escolaridade:

 Fundamental Incompleto Fundamental Completo Médio Incompleto Médio Completo Superior Incompleto Superior Completo

5. Tonalidade da Pele:

 Branca Amarela Escura Ignorada

6. Frequência de Exposição Solar Semanal:

 Diária Alternada. Indicar o número de dias:

7. Tempo de Exposição Solar Semanal (em horas):

8. Horários de Exposição Solar na Semana:

 08h-10h 10h-12h 13h-14h 15h-17h Outros. Qual:

9. Utilização de Protetor Solar durante o período de Exposição:

 Sim Não As vezes

10. Frequência de Consumo de Alimentos Ricos em Vitamina D Semanalmente:

Exemplos de Alimentos: Peixes gordurosos de água fria, Óleo de fígado, Gemas de Ovo, Leite e Cereais.

 Diária Alternada. Indicar o número de dias: Não Consome estes Alimentos

11. Tempo em Reclusão:

12. Regime Prisional: Fechado Semi-aberto13. Exerce Atividade Laboral: Sim Não

14. Tempo de Diagnóstico da Infecção pelo vírus HIV:

15. Via de Transmissão:

- Transfusão sanguínea Uso de drogas injetáveis
 Contato sexual heterossexual Contato sexual homossexual
 Ignorado

16. Diagnóstico/apresentação de patologia associada (doenças crônicas e oportunistas – nos últimos 6 meses):

- Hepatite B e C Hipertensão arterial
 Diabetes *mellitus* Tuberculose
 Infecção ocasionada por fungos Pneumonia
 Outras. Qual:

17. Utilização de terapia antirretroviral (TARV): Não Sim. Qual:

18. Tempo de utilização da TARV:

19. Utilização de outra medicação? Não Sim. Qual: