

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE  
VITAMINA E EM PACIENTES INFECTADOS PELO HIV-1**

**Trabalho apresentado como requisito  
parcial para obtenção do título de Mestre  
em Farmácia, com ênfase em Análises  
Clínicas, na Universidade Federal de  
Santa Catarina-UFSC**

Aluno: Odilon de Souza Júnior  
Orientador: Prof. Dr. Celso Spada

Florianópolis (SC), outubro de 2003.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE  
VITAMINA E EM PACIENTES INFECTADOS PELO HIV-1**

**ODILON DE SOUZA JÚNIOR**

Florianópolis  
2003.

**Para Patrícia, companheira  
admirável, de uma fé na vida  
que beira a irracionalidade.**

De modo geral, não há nada mais importante na vida do que descobrir o ponto de vista correto a partir do qual se deve olhar e julgar as coisas e, então, ater-se a ele.

Carl von Clausewitz



|  | <b>Pág.</b> |
|--|-------------|
| Lista de abreviaturas.....   | iv          |
| Lista de figuras.....  | vi          |
| Resumo.....  | viii        |
| Abstract.....  | ix          |
| 1. INTRODUÇÃO.....   | 01          |
| 1.1. Considerações Gerais.....   | 01          |
| 1.2. Diagnóstico e estadiamento da infecção pelo HIV.....                        | 02          |
| 1.3. Biologia do HIV.....  | 05          |
| 1.4. História natural da infecção pelo HIV-1.....                                | 08          |
| 1.5. Imunidade Humoral.....  | 09          |
| 1.6. Citocinas.....  | 11          |
| 1.7. Apoptose.....   | 12          |
| 1.8. Alfa-Tocoferol.....   | 14          |
| 2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....  | 18          |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS.....  | 19          |
| 3.1. Casuística.....   | 19          |
| 3.2. Fracionamento do Sangue.....  | 21          |
| 3.3. Armazenamento das amostras de soro.....                                     | 21          |
| 3.4. Isolamento de células mononucleares.....                                    | 22          |
| 3.5. Ensaio de viabilidade celular.....  | 23          |
| 3.6. Contagem de linfócitos CD4 <sup>+</sup> e linfócitos CD8 <sup>+</sup> ..... | 29          |
| 3.7. Determinação dos níveis plasmáticos de RNA do HIV-1.....                    | 30          |

---

|  |    |
|--|----|
| 3.8.Determinação dos níveis séricos de IgG, IgM e IgA.....                       | 31 |
| 3.9.Determinação dos níveis séricos de alfa-tocoferol.....                       | 32 |
| 3.10.Níveis séricos de colesterol total, frações lipoprotéicas e triglicerídeos. | 32 |
| 4.INFERÊNCIA ESTATÍSTICA.....  | 34 |
| 5.RESULTADOS.....  | 35 |
| 5.1.Níveis plasmáticos de RNA do HIV-1.....                                      | 35 |
| 5.2.Número de linfócitos CD4 <sup>+</sup> .....                                  | 37 |
| 5.3.Número de linfócitos CD8 <sup>+</sup> .....                                  | 38 |
| 5.4.Relação CD4/CD8.....   | 39 |
| 5.5.Percentual de linfócitos vivos.....  | 40 |
| 5.6.Percentual de linfócitos em apoptose.....                                    | 42 |
| 5.7.Percentual de linfócitos mortos.....   | 44 |
| 5.8.Níveis séricos de IgG, IgM e IgA.....  | 45 |
| 5.9.Níveis séricos de alfa-tocoferol.....  | 48 |
| 5.10.Níveis séricos de colesterol total.....                                     | 49 |
| 5.11. Níveis séricos de HDL-colesterol.....                                      | 50 |
| 5.12. Níveis séricos de LDL-colesterol.....                                      | 51 |
| 5.13. Níveis séricos de VLDL-colesterol.....                                     | 52 |
| 5.14. Níveis séricos de Triglicerídeos.....                                      | 53 |
| 6.DISSCUSSÃO.....  | 54 |
| 7.CONCLUSÕES.....  | 61 |
| 8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....  | 62 |
| 9.ANEXOS   | 71 |

---

|   |     |
|---|-----|
| 9.1.ANEXO 1.Tabelas de resultados estatísticos dos marcadores avaliados   | 72  |
| 9.2.ANEXO 2.Quadro com os resultados dos marcadores avaliados em<br>cada paciente nos grupos controle e estudo..... | 81  |
| 9.3.ANEXO 3.Parecer do comitê em pesquisa com seres humanos da<br>Universidade Federal de Santa Catarina.....       | 98  |
| 9.4.ANEXO 4.Parecer da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa<br>(CONEP) do Ministério da Saúde.....                | 100 |



---

|               |   |
|---------------|---|
| AIDS          | Síndrome da Imunodeficiência Adquirida  |
| Apaf-1        | Fator de Ativação de Proteases Pró-apoptóticas                                      |
| $\alpha$ -TTP | Proteína Transferidora de Alfa-tocoferol  |
| CAD           | DNase ativada por caspases  |
| CCR5          | Receptor de Quimiocinas   |
| CD4           | Grupamento de Diferenciação (Cluster Differentiation) Linfócitos T auxiliares       |
| CD8           | Grupamento de Diferenciação Linfócitos T citotóxicos                                |
| CD27          | Grupamento de Diferenciação Linfócitos B de Memória                                 |
| CD27L         | Grupamento de Diferenciação Linfócitos T e B ativados Sinônimo: CD70                |
| CD40          | Grupamento de Diferenciação Linfócitos B  |
| CD40L         | Grupamento de Diferenciação Linfócitos T ativados Sinônimo: CD154                   |
| CD70          | Grupamento de Diferenciação Linfócitos T e B ativados<br>Sinônimo: CD27L            |
| CD95          | Grupamento de Diferenciação Vários tipos celulares Sinônimos: Fas,<br>APO-1         |
| CD95L         | Grupamento de Diferenciação Linfócitos T ativados Sinônimo: Ligante<br>Fas (FasL)   |
| CD154         | Grupamento de Diferenciação Linfócitos T ativados Sinônimo: Ligante<br>CD40 (CD40L) |
| CDC           | Centers for Disease Control   |
| CTL           | Linfócito T Citotóxico  |
| CXCR4         | Receptor de Quimiocinas   |
| DED           | Domínios Efetores de Morte  |
| DISC          | Complexos Sinalizadores da Indução da Morte   |
| DNA           | Ácido Desoxirribonucléico   |
| ELISA         | Enzima Imunoensaio  |
| ERO           | Espécies Reativas de Oxigênio   |
| EUA           | Estados Unidos da América   |
| FADD          | Proteína Associada ao Domínio da Morte Fas  |
| FLASH         | Proteínas Adaptadoras (FLICE-associated huge protein)                               |
| FLIP          | Proteínas Inibidoras (FLICE-inhibitory protein)                                     |
| gp 120        | Glicoproteína 120   |
| gp160         | Glicoproteína 160   |
| gp41          | Glicoproteína 41  |

---

|                  |  |
|------------------|--|
| GSH              | Glutathiona Reduzida                         |
| HDL              | Lipoproteína de Alta Densidade               |
| HIV              | Vírus da Imunodeficiência Humana             |
| HIV-1            | Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 1      |
| HIV-2            | Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 2      |
| HTLV-III         | Vírus Linfotrópico Humano Tipo-III           |
| IFI              | Imunofluorescência Indireta                  |
| I- $\kappa$ B    | Proteína Inibitória KappaB                   |
| IL-1             | Interleucina 1                               |
| IL-2             | Interleucina 2                               |
| IL-5             | Interleucina 5                               |
| IL-6             | Interleucina 6                               |
| IL-8             | Interleucina 8                               |
| IL-10            | Interleucina 10                              |
| INF- $\gamma$    | Interferon gama                              |
| INT              | Integrase                                    |
| LAV              | Vírus Associado a Linfadenopatia             |
| LDL              | Lipoproteína de Baixa Densidade              |
| LTR              | Repetição Terminal Longa                     |
| NF- $\kappa$ B   | Fator de Transcrição Nuclear KappaB          |
| PCR              | Reação em Cadeia da Polimerase               |
| PT               | Protease                                     |
| RNA              | Ácido Ribonucléico                           |
| RNA <sub>m</sub> | RNA mensageiro                               |
| RT               | Transcriptase Reversa                        |
| SOD              | Superóxido Dismutase                         |
| TCR              | Receptor de Células T                        |
| TGF- $\beta$     | Fator Beta de Transformação e Crescimento    |
| TNF- $\alpha$    | Fator de Necrose Tumoral-alfa                |
| TNF-R1           | Receptor 1 para Fator de Necrose Tumoral     |
| TRADD            | Proteína Associada ao Domínio da Morte TNFR1 |
| VLDL             | Lipoproteína de Muito Baixa Densidade        |

---

|  |    |
|--|----|
| <b>FIGURA 1.</b> Perfil do número de linfócitos CD4+ e dos níveis plasmáticos de RNA do HIV durante a infecção pelo HIV .....  | 09 |
| <b>Figura 2.</b> Seleção das células e/ou estruturas, de acordo com o seu volume e sua granulosidade, através do programa CELLQuest.....   | 25 |
| <b>Figura 3.</b> Distribuição das células e/ou estruturas selecionadas, através do CELLQuest, de acordo com a intensidade com que estas foram marcadas pela calceína e/ou brometo de etídio..... | 26 |
| <b>Figura 4.</b> Células selecionadas e analisadas através do PAINT A GATE, de acordo com o seu volume e sua granulosidade.....  | 26 |
| <b>Figura 5.</b> Distribuição das células selecionadas, através do PAINT A GATE, de acordo com a sua granulosidade e a intensidade com que foram marcadas pela calceína.....                     | 27 |
| <b>Figura 6.</b> Distribuição dos linfócitos, obtida através do PAINT A GATE, de acordo com a intensidade de sua marcação pela calceína e/ou pelo brometo de etídio.....                         | 28 |
| <b>Figura 7.</b> Resultado final da avaliação da viabilidade celular de linfócitos.....  | 28 |
| <b>Figura 8.</b> Linfócitos CD4 <sup>+</sup> (células/mm <sup>3</sup> ) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....  | 37 |
| <b>Figura 9.</b> Linfócitos CD8 <sup>+</sup> (células/mm <sup>3</sup> ) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....  | 38 |
| <b>Figura 10.</b> Relação CD4/CD8 nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....  | 39 |

---

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 11.</b> Linfócitos vivos em percentual (%) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....          | 41 |
| <b>Figura 12.</b> Linfócitos apoptóticos em percentual (%) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....    | 43 |
| <b>Figura 13.</b> Linfócitos mortos em percentual (%) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....         | 44 |
| <b>Figura 14.</b> Níveis séricos de IgG (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....               | 45 |
| <b>Figura 15.</b> Níveis séricos de IgM (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....               | 46 |
| <b>Figura 16.</b> Níveis séricos de IgA (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....               | 47 |
| <b>Figura 17.</b> Níveis séricos de alfa-tocoferol ( $\mu$ M) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo..... | 48 |
| <b>Figura 18.</b> Níveis séricos de colesterol total (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....  | 49 |
| <b>Figura 19.</b> Níveis séricos de HDL-colesterol (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....    | 50 |
| <b>Figura 20.</b> Níveis séricos de LDL-colesterol (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....    | 51 |
| <b>Figura 21.</b> Níveis séricos de VLDL-colesterol (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....   | 52 |
| <b>Figura 22.</b> Níveis séricos de Triglicerídeos (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.....    | 53 |

## **EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINA E EM PACIENTES INFECTADOS PELO HIV-1.**

Os pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) apresentam um estado crônico de estresse oxidativo com diminuição dos níveis séricos de micronutrientes essenciais, em especial o alfa-tocoferol. O estresse oxidativo é gerado pelo próprio curso crônico da resposta imunológica à infecção, assim como por constituintes virais, e acaba por favorecer a replicação viral via NF- $\kappa$ B e a depleção de linfócitos por apoptose, formando assim um círculo vicioso de comprometimento do sistema imune e progressão para AIDS. O objetivo de nosso estudo foi avaliar a efetividade da suplementação de pacientes soropositivos para o HIV-1 submetidos à terapia anti-retroviral, com vitamina E 800 mg/dia, em recompor os níveis séricos de alfa-tocoferol. Avaliar seus efeitos sobre os parâmetros laboratoriais marcadores do processo infeccioso, carga viral, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> e relação CD4/CD8. E avaliar seu efeito sobre os índices de viabilidade celular de linfócitos periféricos e marcadores de ativação imunológica de valor prognóstico na infecção pelo HIV-1, IgA, IgG, IgM. Participaram do estudo 29 pacientes, destes, 14 foram suplementados e 15 fizeram uso de placebo. As análises foram realizadas antes do início do tratamento e após 60, 120 e 180 dias. Os resultados demonstraram diminuição significativa da carga viral, nos dois grupos, em decorrência da terapia anti-retroviral, acompanhado de aumento significativo no número de linfócitos CD4<sup>+</sup> e relação CD4/CD8, bem como diminuição significativa dos níveis de IgA, IgG, IgM. Os resultados demonstram ainda, efeito suplementar significativo da suplementação sobre os índices de viabilidade celular e IgA. Com este estudo concluímos que a suplementação com 800 mg/dia de alfa-tocoferol, via oral, associada a terapia anti-retroviral, propicia um aumento na viabilidade dos linfócitos circulantes em pacientes soropositivos para o HIV-1, e sugerimos que esse efeito possa colaborar na reconstituição do sistema imune nesses pacientes.

**EFFECTS OF THE SUPPLEMENTATION WITH VITAMIN E IN HIV-1 INFECTED PATIENTS.**

Patients infected by the human immunodeficiency virus (HIV) show a chronic state of oxidative stress with a decrease in the serum levels of essential micronutrients, in particular alpha-tocopherol. The oxidative stress is generated by chronic immune response to infection, as well as by viral products, favored viral replication by NF- $\kappa$ B pathway and lymphocytes destruction by apoptosis, forming thus a vicious circle of the immune system compromise and AIDS progression. The objective of our study was to evaluate the effect of supplementation with 800mg/day of vitamin E in reestablish the serum levels of alpha-tocopherol in HIV-1 seropositive patients undergoing anti-retroviral therapy. Evaluate your effects in laboratorial infection markers, viral load, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and CD4/CD8 relation. And evaluate your effect in cellular viability of peripheral blood lymphocytes and immune markers of the prognostic value in HIV-1 infection, IgA, IgG, IgM. Twenty nine patients participated in the study, of whom 14 were supplemented and 15 utilized placebo. The analyses were carried out before treatment commenced and after 60, 120 and 180 days. The results demonstrated a significant decrease in the viral load for both groups, as a consequence of the anti-retroviral therapy, accompanied by a significant increase in the number of CD4<sup>+</sup> lymphocytes and CD4/CD8, as well as significant decrease in IgA, IgG, IgM. The results still demonstrated, significant additional effect of supplementation in cellular viability index and IgA. With this study it is concluded that the oral supplementation of 800 mg/day of vitamin E, associated with anti-retroviral therapy, provides an increase in the viability of peripheral blood lymphocytes in HIV-1 seropositive patients, and it is suggested that this effect may collaborate in the reconstitution of the immune system of these patients.

## 1.0 INTRODUÇÃO

### 1.1 Considerações gerais

Em 1981, o Centers for Disease Control (CDC) de Atlanta, Geórgia, descreveu os primeiros casos da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), em homossexuais masculinos residentes nas cidades de Los Angeles, Nova York e São Francisco, nos Estados Unidos da América (EUA) (CDC, 1981). Estes primeiros relatos foram feitos a partir de observações de cinco casos de pneumonia por *Pneumocystis carini*, uma afecção extremamente rara nos EUA, até aquele momento. Além destes, concomitantemente observou-se vinte e seis casos de sarcoma de Kaposi, uma neoplasia cutâneo vascular de origem endotelial, também raramente observada até aquele momento (CDC, 1981; BLATNER, 1991).

Estes primeiros relatos foram rapidamente seguidos por outros, onde a mesma síndrome foi descrita em usuários de drogas injetáveis (CDC, 1981c), hemofílicos (CDC, 1982), hemotransfundidos (CDC, 1982c), crianças nascidas de mães infectadas (CDC, 1982d) e parceiros sexuais de indivíduos infectados (CDC, 1983).

Em 1983, de maneira independente e quase simultânea, Barré-Sinoussi e colaboradores (1983) e Gallo e colaboradores (1983), isolaram um retrovírus de um paciente com linfadenopatia persistente e de um paciente com AIDS, ao qual denominaram *Lymphadenopathy-associated virus* (LAV) e *Human T-Lymphotropic virus* (HTLV-III), respectivamente.

A denominação oficial de *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) foi proposta, em 1986, por um comitê internacional (COFFIN, 1986). Neste mesmo ano, Clavel e colaboradores (1986), identificaram um segundo agente patogênico em indivíduos com AIDS na região ocidental da África, o qual denominaram HIV-2.

O HIV-2 difere do atualmente denominado HIV-1, quanto a sua distribuição, mais restrita ao continente africano, e patogenicidade. Enquanto o HIV-1 é claramente causador de AIDS, o HIV-2 é muitas vezes associado a

baixa patogenicidade e transmissibilidade, além de estar associado à infecções com longos períodos assintomáticos (HU *et al.*, 1996; UNAIDS, 1997).

Atualmente, as análises filogenéticas do HIV-1, com base no seqüenciamento dos genes *gag* e *pol*, revelaram múltiplas cepas, aproximadamente eqüidistantes, que são agrupadas em 9 subtipos (A,B,C,D,F,G,H,I,J). Coletivamente os subtipos estão agrupados no grupo M (major). Há ainda dois distintos grupos, o grupo "O" (outlier) e o grupo N (non-M/non-O), recentemente descoberto (ROBERTSON *et al.*, 2000).

No Brasil, desde 1980, até o mês de dezembro de 2003, a Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS registrou 257.780 casos de AIDS, sendo que, a região metropolitana de Florianópolis apresentava uma incidência de 67,7 casos de AIDS por 100.000 habitantes (BRASIL, 2003).

## 1.2 Diagnóstico e estadiamento da infecção pelo HIV-1

O diagnóstico da infecção pelo HIV-1 em adultos e adolescentes precisa obedecer aos seguintes critérios:

- Resultados positivos em dois testes sorológicos tipo ELISA com princípios metodológicos distintos seguidos de resultado positivo em teste sorológico de caráter confirmatório, tipo imunofluorescência indireta ou Wester Blot, ou;
- Resultado positivo ou qualquer quantidade detectável em um dos seguintes testes virológicos:
  - Detecção de ácido nucléico do HIV-1, DNA ou RNA, por metodologias baseadas em PCR;
  - Teste para o antígeno p24;
  - Isolamento do HIV-1 por cultura viral (CDC, 1999).

Esses critérios diagnóstico foram usados no Brasil até recentemente, quando em 30 de janeiro de 2003, o Ministério da Saúde estabeleceu novos critérios para diagnóstico da infecção pelo HIV em indivíduos acima de dois anos de idade, e que estão agrupados em 3 etapas, como segue:

Etapa I - Triagem Sorológica:



- Realização de um imunoenensaio nesta primeira etapa de testes de qualquer amostra de soro ou plasma. O imunoenensaio utilizado não poderá ser de avaliação rápida (teste rápido) e deverá ser capaz de detectar anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2;
- As amostras não-reagentes terão seu resultado definido como "Amostra Negativa para HIV";
- As amostras reagentes ou inconclusivas devem ser submetidas ao segundo imunoenensaio em paralelo ao teste de Imunofluorescência Indireta (IFI) para HIV-1 ou ao teste de Immunoblot para HIV. O segundo imunoenensaio deverá ter princípio metodológico e/ou antígenos distintos do primeiro imunoenensaio utilizado. O teste de Western blot pode ser realizado diretamente substituindo a IFI.

Etapa II - Confirmação Sorológica por meio da realização de um segundo imunoenensaio em paralelo ao teste de Imunofluorescência Indireta para o HIV-1 (IFI/HIV-1) ou ao teste de Immunoblot para HIV.

Etapa III - Confirmação Sorológica por meio da realização do teste de Western blot para HIV-1 (WB/HIV-1) (Brasil – Ministério da Saúde, 2003)

Após diagnóstico confirmatório de infecção pelo HIV-1, critérios clínicos e laboratoriais são usados no estadiamento e definição de caso de AIDS. Vários organismos internacionais têm proposto diferentes critérios de estadiamento. Entre esses, o sistema proposto pelo CDC divide a doença em três categorias clínicas:

- Categoria A: Enquadra-se nessa categoria todos os pacientes soropositivos para o HIV-1, e que atendam uma ou mais das seguintes condições:
  - infecção assintomática;
  - linfadenopatia generalizada persistente;
  - infecção sintomática aguda (síndrome retroviral).
- Categoria B: Enquadra-se nessa categoria todos os pacientes sintomáticos que apresentam uma ou mais das seguintes condições:

- candidíase orofaríngea persistente;
  - sintomas constitucionais como febre ( $> 38.5^{\circ} \text{C}$ ) ou diarreia, por mais de 1 mês;
  - púrpura trombocitopênica idiopática;
  - listeriose;
  - neuropatia periférica.
- Categoria C: Segundo essa proposta de estadiamento, os pacientes uma vez classificados nessa categoria assim se manterão. As principais condições clínicas são:
    - candidíase traqueal, bronquial ou pulmonar;
    - câncer cervical invasivo;
    - coccidioidomicose disseminada ou extra-pulmonar;
    - criptococose extrapulmonar;
    - criptosporidiose e/ou isosporidiose intestinal crônica;
    - encefalopatia relacionada ao HIV-1;
    - sarcoma de Kaposi's
    - tuberculose pulmonar ou extrapulmonar;
    - septicemia recorrente por *Salmonella*.

As subdivisões dessas categorias são feitas de acordo com o número de linfócitos T CD4<sup>+</sup> no sangue periférico, conforme se verifica na tabela 1.1 (CDC, 1992).

**TABELA 1** Classificação da infecção pelo HIV-1, proposta pelo CDC e utilizada a partir de 1993.

| Contagem de linfócito CD4 | Categorias Clínicas |    |    |
|---------------------------|---------------------|----|----|
|                           | A                   | B  | C  |
| $\geq 500/\mu\text{L}$    | A1                  | B1 | C1 |
| 200 – 499/ $\mu\text{L}$  | A2                  | B2 | C2 |
| $< 200/\mu\text{L}$       | A3                  | B3 | C3 |

O diagnóstico de AIDS é definido a todos os pacientes da Categoria C, assim como os que se enquadram no subtipo 3 ( $CD4^+ < 200/\mu l$ ) (CDC., 1992).

### 1.3 BIOLOGIA DO HIV-1

O HIV-1, e seus subtipos são lentivírus, constituintes de um grande grupo de retrovírus complexos, caracterizados pela presença de vários genes acessórios ou regulatórios, além dos três principais genes env, gag e pol (FOLEY, 2000).

O vírus é esférico, com diâmetro aproximado de 80 a 130nm. Externamente observa-se o nucleocapsídeo viral composto por uma cápside icosaédrica envolta por um envelope lipoprotéico, originado na bicamada lipídica da célula hospedeira, com 72 projeções em sua superfície, que são as glicoproteínas 120 (gp 120), responsáveis pela ligação com os receptores CD4 da célula hospedeira. Mais internamente encontra-se a matriz protéica, formada pela proteína p17, e o capsídeo viral, formado pela proteína p24. No interior do capsídeo viral encontram-se o genoma viral, com duas simples fitas de RNA, e as principais enzimas virais, transcriptase reversa (RT), protease (PT), ribonuclease e integrase (INT) (SERB *et al.*, 1994).

O genoma do HIV-1 consiste de aproximadamente 9.200 pb em cada fita de RNA com nove genes cada (gag, pol, env, tat, rev, nef, vif, vpu e vpr), flanqueados por duas regiões denominadas *long terminal repeats* (LTR). Os genes gag, pol e env codificam os principais componentes estruturais e funcionais do vírus (FOLEY, 2000).

O gene gag codifica as proteínas do capsídeo viral, p17 (matriz), p24 (capsídeo), p7 (nucleocapsídeo) e p6, todas originadas de uma proteína precursora de 55 Kd, a p55, que é posteriormente clivada por uma protease viral no processo de montagem do vírus. O gen pol codifica as enzimas de importância viral, protease (PT), transcriptase reversa (RT) e a integrase (INT). Já o gene env codifica as glicoproteínas do envelope viral gp120 e gp41, que se originam de uma glicoproteína precursora comum a gp160. As proteínas maduras gp120/gp41 são mantidas juntas na superfície viral por interações não

covalentes, o que resulta em substancial número de gp120 sendo liberada no meio (KIENY, 1990; FAUCI *et al.*, 1996).

Os genes *tat* e *rev* produzem os fatores regulatórios necessários para expressão do HIV-1. Os produtos conhecidos do gen *tat*, *tat-1* exon de 72 aminoácidos e *tat-2* exon de 86 aminoácidos, atuam por ligação ao TAR RNA (*Target sequence for viral transactivation*) iniciando ou ativando a transcrição viral. O produto do gen *rev*, uma fosfoproteína de 19 Kdaltons age por ligação ao RRE (*rev responsive element*) e promove a exclusão do núcleo, estabilização e utilização do RNAm viral (KUIKEN *et al.*, 2000 ).

Os demais produtos dos genes *vif*, *vpr*, *vpu* e *nef* são ditas proteínas acessórias ou auxiliares e parecem desempenhar papel importante na infectividade e patogenia do vírus (DESROSIERS, 1992; KUIKEN *et al.*, 2000).

O HIV-1 infecta preferencialmente células que expressam receptores CD4 na superfície, por interação deste receptor com sua gp120. Contudo as mudanças conformacionais geradas pela interação da molécula gp120, do HIV-1, com o receptor CD4, da célula alvo, são insuficientes para fusão do HIV-1 com a membrana da célula hospedeira. Sendo necessária a presença de um co-receptor, os receptores de quimiocinas, que favorecem uma mudança conformacional na molécula gp41, do HIV-1, e com isso uma efetiva fusão (MURDOCH & FINN, 2000).

Os receptores de quimiocinas incluem a família CXC (CXCR1- CXCR5) e a família CC (CCR1-CCR9) e se distribuem de forma heterogênea nos diferentes tipos celulares, o que explica em parte a conhecida seletividade celular de diferentes cepas de HIV-1 conhecidas como T-tróficas, que interagem seletivamente com CXCR4 para infectarem linfócitos T e M-tróficas que interagem preferencialmente com CCR5 para infectarem macrófagos e monócitos (DRAGIC *et al.*, 1996; HORUK, 1999; TZANCO & CHRISTOPHER, 2001).

As mutações nos genes que codificam os co-receptores podem explicar a presença de resistência a infecção pelo HIV-1 em alguns casos (MURDOCH &

FINN, 2000), por outro lado mutações que ocorrem no vírus aumentam sua capacidade de infectabilidade por esse mecanismo (LEVY, 1996).

A mutação no gen que codifica o co-receptor CCR5, conhecida como *CCR5Δ32* dá origem a uma proteína não-funcional, e é relativamente freqüente em caucasianos (10%) e menos freqüente em negros (2%) em sua forma homozigótica. Em homozigose essa mutação confere proteção *in vitro* contra infecção por cepas de HIV-1. Também em heterozigose, à *CCR5Δ32* parece proteger parcialmente contra a transmissão heterossexual do HIV-1, porém, não da transmissão homossexual ou perinatal (MCDERMOTT *et al.*, 1998).

Após a fusão, o HIV-1 perde o envelope e libera seu conteúdo no citoplasma celular e dá início as etapas de transcrição do RNA viral em DNA complementar que é incorporado ao genoma da célula hospedeira, sendo então denominado provírus. Uma vez o provírus formado, o vírus somente poderá ser eliminado pela destruição da célula. Este provírus pode permanecer latente ou ser ativado levando a síntese de novas partículas infectantes (ROSENBERG & FAUCI, 1991).

Entre os principais estímulos envolvidos na ativação do ciclo de replicação viral estão as citocinas, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 (IL-1), interleucina 2 (IL-2) e interleucina 6 (IL-6) (PIETTE, 1994; ZAITSEVA *et al.*, 2000), e espécies reativas de oxigênio que ativam o fator de transcrição nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) (PIETTE, 1994; PEACE & LEAF, 1995; SHOR-POSNER *et al.*, 2002).

Após a ativação do ciclo de replicação viral, o HIV utiliza os mecanismos biossintéticos celulares, levando a formação de novas partículas virais que são liberadas por processo de brotamento, ou por influência dos genes reguladores, em processo que acaba por levar a lise da célula infectada. A síntese das proteínas que irão compor a estrutura morfológica e funcional da nova partícula viral, ocorre no citosol pela tradução dos fragmentos de RNA mensageiro (RNAm) produzidos, a partir da clivagem do RNAm transcrito, nesse processo a enzima de origem viral denominada protease, tem papel fundamental (POLI *et al.*, 1993).

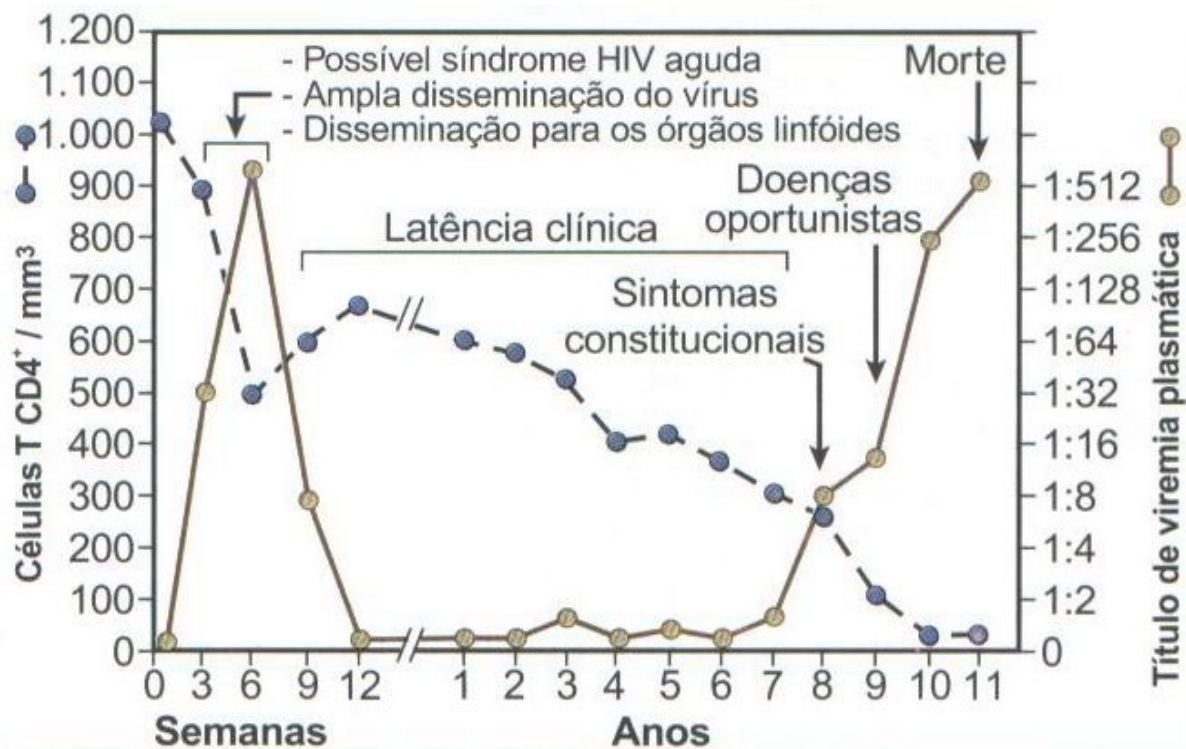
#### 1.4 HISTÓRIA NATURAL DA INFECÇÃO PELO HIV-1

A infecção aguda pelo HIV-1, também conhecida como síndrome retroviral, acomete 50 a 90% dos pacientes infectados, começando entre a 2<sup>a</sup> e 6<sup>a</sup> semana após a exposição e se prolonga por algumas semanas. Nesse período os sinais e sintomas mais comuns são febre, astenia, exantema cutâneo máculo-papular, linfadenopatia, fotofobia e odinofagia. Laboratorialmente os parâmetros refletem a intensa atividade replicativa viral, com viremia geralmente superior a 50.000 cópias/ml, podendo alcançar concentrações de  $10^5$  a  $10^7$  cópias/ml, e marcante declínio de linfócitos CD4<sup>+</sup> (QINN, 1997; YOUNG & KURITZKES, 1999).

Geralmente três semanas a três meses, após o aparecimento dos sintomas, o sistema imune responde à infecção o que é marcado pelo declínio da viremia, aumento dos linfócitos CD4<sup>+</sup> e soroconversão, com anticorpos anti-HIV detectáveis nos ensaios tipo ELISA. Contudo, a resposta imune ao HIV-1 é insuficiente para bloquear completamente a replicação viral, mantendo-se ativa nos tecidos linfóides. Nesse período a infecção entra em um estado de latência clínica que poderá perdurar de 2 a 10 anos até que o paciente entre em um estado de AIDS clínica (QINN, 1997).

O aparecimento e progressão da infecção pelo HIV-1, seguido do período de latência, são marcados pela progressiva destruição dos linfócitos CD4<sup>+</sup>, estando esta depleção, no centro da patogênese da infecção (GOUGEON & MONTAGNIER, 1999).

Entre as principais funções dos linfócitos CD4<sup>+</sup> estão: a) a produção de citocinas necessárias à imunidade inata; b) ativação e maturação dos linfócitos B em plasmócitos secretores de imunoglobulinas e c) diferenciação dos linfócitos T CD8<sup>+</sup> em linfócitos T citotóxicos vírus-específico (CTL). Todas essas funções estão comprometidas na AIDS (GOUGEON & MONTAGNIER, 1999).



**FIGURA 1.** Perfil do número de linfócitos CD4<sup>+</sup> e dos níveis plasmáticos de RNA do HIV durante a infecção pelo HIV (ABBAS, 2003).

Os principais mecanismos envolvidos na depleção de linfócitos CD4<sup>+</sup> na AIDS são: *i*) o efeito citopático direto do vírus nas células infectadas e *ii*) a indução de apoptose em células não infectadas (DOBMEEYER *et al.*, 1997).

### 1.5 IMUNIDADE HUMORAL

A hipergamaglobulinemia e a espontânea secreção de níveis elevados de imunoglobulinas (Ig's) por linfócitos B periféricos de indivíduos infectados com o HIV-1 são achados marcantes e precoces que indicam o comprometimento funcional dessas células em estágios iniciais da infecção (DE MILITO, 2001; NAGASE, 2001).

Apesar desse estado hiperativo dos linfócitos B, há um grave comprometimento na formação de anticorpos antígeno-específico nesses pacientes, quer seja após vacinação ou após estimulação, *in vitro*, com mitógenos e antígenos (DE MILITO, 2001; NAGASE, 2001).

Os mecanismos envolvidos na hipergamaglobulinemia são ainda pouco conhecidos, os estudos sugerem tanto a participação de proteínas virais (Tat, Nef, gp 120), como distúrbios no sistema imune, principalmente na cooperação celular entre linfócito B e linfócito T e na secreção de citocinas (TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10) (MÜLLER, 1998; NAGASE, 2001).

Os estudos recentes têm apontado para uma alteração na cinética celular dos linfócitos B em pacientes infectados com o HIV-1, com plasmocitose e marcante diminuição dos linfócitos B de memória (DE MILITO, 2001; NAGASE, 2001).

Os linfócitos B de memória expressam caracteristicamente CD27, uma glicoproteína transmembrana tipo I da família dos receptores do fator de necrose tumoral (TNF-R), que quando interage com seu ligante natural CD70 (CD27L), expresso em linfócitos T ativados, promovem a diferenciação dos linfócitos B de memória em plasmócitos (NAGASE, 2001). Na infecção pelo HIV-1, observa-se um aumento na expressão de CD70 pelos linfócitos T, sendo este aumento inversamente correlacionado a proporção de linfócitos B de memória (CD27<sup>+</sup>) circulante (DE MILITO, 2001).

Outra observação relevante na infecção pelo HIV-1 é a diminuição de CD154 (CD40L), uma molécula co-estimuladora expressa em linfócitos CD4<sup>+</sup>. A interação de CD40L com CD40 dos linfócitos B é requerida para inversão de classes das imunoglobulinas promovendo a geração de linfócitos B de memória (CD27<sup>+</sup>). Com base nesses achados, a hipergamaglobulinemia assim como o comprometimento na secreção de anticorpos antígeno-específico seriam decorrentes de ambos os mecanismos, aumento de CD70, que leva a plasmocitose e secreção de grandes níveis de imunoglobulinas, porém com depleção dos linfócitos B de memória (CD27<sup>+</sup>). Ocorre também diminuição de CD40L, resultado da depleção de linfócitos CD4<sup>+</sup> característico da infecção pelo HIV-1, o que acaba por comprometer a manutenção de um *pool* normal de linfócitos B de memória requeridos na resposta secundária, ou seja, antígeno-específica (NAGASE, 2001).



A hiperatividade persistente dos linfócitos B, durante a infecção pelo HIV-1, acaba por favorecer transformações genéticas que levam ao aparecimento de clones anômalos (HERNDIER *et al.*, 1994; RIBOLDI *et al.*, 1994) o que pode explicar ao menos em parte a alta incidência de linfoma não-Hodgkin nesses pacientes (HERNDIER *et al.*, 1994).

## 1.6 CITOCINAS

As citocinas são glicoproteínas de baixo peso molecular secretadas por leucócitos e outros tipos celulares em resposta a diferentes estímulos, atuando como reguladoras e promotoras da resposta imune (HOWARD, 1996).

Podemos classificar as citocinas segundo sua principal função em: citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$ ) e antiinflamatórias (IL-10 e TGF- $\beta$ ). Contudo, essa classificação mostra-se limitada pela complexidade de efeitos que exercem nos diferentes tipos celulares (HOWARD, 1996). Outra forma de classificarmos as citocinas é segundo o tipo de linfócito T auxiliar que a produz, desta forma temos as citocinas tipo 1 (IL-2, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ ) que são sintetizadas e secretadas principalmente por linfócitos T auxiliar 1 (LTa<sub>1</sub>) e estão envolvidas na imunidade celular e imunidade a patógenos intracelulares. As citocinas tipo 2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10), derivadas de LTa<sub>2</sub> e envolvidas na ativação e diferenciação de linfócitos B e imunidade a patógenos extracelulares (HOWARD, 1996; GOUGEON & MONTAGNIER, 1999).

No contexto da infecção pelo HIV-1, os pacientes mesmo sem infecções oportunistas concomitantes, apresentam níveis séricos aumentados de TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-8 e IL-6, principalmente em estágios mais avançados da doença (AUKRUST *et al.*, 1994; ULLUM *et al.*, 1996; OTT *et al.*, 1998). Os níveis aumentados dessas citocinas são responsáveis, ao menos em parte, pelos sintomas constitucionais da infecção como febre e anorexia, além de alterarem a velocidade de síntese de proteínas de fase aguda, e participarem da hipergamaglobulinemia característica dos pacientes infectados pelo HIV-1 (GRIMBLE, 1998; DE MILITO, 2001; NAGASE, 2001). Além disso, o TNF- $\alpha$  e o INF- $\gamma$  estão envolvidos na indução de apoptose em linfócitos CD4<sup>+</sup> (KRAMMER, 2000).

## 1.7 APOPTOSE

O termo apoptose foi descrito pela primeira vez por Currie e colaboradores, em 1972, para descrever um tipo comum de morte celular programada observada por estes, em vários tecidos e tipos celulares, sendo morfológicamente caracterizada por condensação e fragmentação nuclear, vacuolização citoplasmática e clivagem do DNA (HENGARTNER, 2000).

A apoptose é um mecanismo fisiológico que preserva a homeostasia celular de tecidos normais, sendo essencial no sistema imune ao desenvolvimento e seleção celular, gerando e mantendo os mecanismos de auto-tolerância, além de ser o principal mecanismo de controle da homeostasia celular após expansão clonal reativa a uma injúria (DOBMEEYER *et al.*, 1997; KRAMMER, 2000).

O principal mecanismo de indução de apoptose nos linfócitos circulantes ocorre via CD95 (Apo/Fas) e CD95L (FasL). O CD95 é um membro da superfamília dos receptores do fator de necrose tumoral (TNF-R), expresso em vários tecidos (KRAMMER, 2000). Já seu ligante natural, CD95L, uma proteína transmembrana tipo II da família do TNF-R, tem expressão mais restrita a certos tipos celulares como linfócitos T ativados, macrófagos e células testiculares (GRIFFITH, 1995; KRAMMER, 2000). Após a estimulação dos linfócitos T, há uma maciça expressão de CD95L, e sua interação com CD95 leva a transdução do sinal apoptótico de maneira análoga a observada após interação de TNF- $\alpha$  com seu receptor-1 (TNF-R1) (KRAMMER, 2000). Após a ligação do CD95L e TNF- $\alpha$  aos seus receptores, os domínios da morte destes receptores são ativados e formam complexos homodímeros, que recrutam as suas respectivas proteínas adaptadoras intracelulares, à proteína associada ao domínio da morte TNFR1 (TRADD) (HSU *et al.*, 1995) e a proteína associada ao domínio da morte Fas (FADD) (CHINNAIYN *et al.*, 1995), para formar complexos sinalizadores da indução da morte (DISC), que ativam a enzima iniciadora caspase 8, que ativa a enzima efetora a caspase 3. A atividade da caspase 3 resulta na degradação de proteínas nucleares e celulares, bem como na decomposição do DNA cromossômico (HENGARTNER, 2000). A caspase 8 pode ainda ativar a

caspase 3, através da clivagem da proteína Bid, que, em seguida, interage com as proteínas externas da membrana mitocondrial formando poros que permitem a liberação do citocromo C, ativando a enzima iniciadora caspase 9 em consequência da ativação do fator de ativação de proteases pró-apoptóticas (Apaf-1) (LI et al., 1998; LUO et al., 1998). A caspase 9, por sua vez, ativa a caspase 3, responsável pela degradação das proteínas celulares e nucleares (SAIKUMAR et al., 1999) e pela ativação da CAD (*Caspase-activated DNase*). Contudo, outras proteínas adaptadoras como a FLASH (*FLICE-associated huge protein*), que interage com os domínios efetores de morte (DED) da caspase 8 (IMAI et al., 1999), proteínas inibidoras como a FLIP (*FLICE inhibitory protein*) e proteínas envolvidas em mecanismos de sobrevivência, como a proteína denominada RIP, podem participar deste mecanismo complexo que pode determinar a vida ou a morte celular (SAIKUMAR et al., 1999).

Esse mecanismo normal de eliminação das células imunes ativadas pode, contudo, ser danoso em infecções crônicas como o HIV-1, onde o estímulo antigênico viral não cessa, mantendo os linfócitos ativados e sensíveis à apoptose. Esse parece ser o mecanismo primário responsável pela morte celular prematura na AIDS (GOUGEON & MONTAGNIER, 1999).

Associado a crônica ativação imune temos, na infecção pelo HIV-1, um estado crônico de estresse oxidativo devido à quebra do balanço normal entre pró-oxidantes e antioxidantes. Esse meio pró-inflamatório e pró-oxidante facilita tanto a replicação viral, via fator nuclear KappaB (NF- $\kappa$ B), como aumenta a susceptibilidade dos linfócitos à apoptose (LOOK, 1998; LI-WEBER, 2000).

O NF- $\kappa$ B é uma denominação genérica de uma família de fatores de transcrição, que coordenam a expressão de uma variedade de genes envolvidos na resposta imune. O NF- $\kappa$ B está presente no citoplasma celular associado a seu inibidor, a proteína I- $\kappa$ B. A fosforilação dessa proteína com degradação do complexo NF- $\kappa$ B/I- $\kappa$ B citoplasmático, por uma variedade de estímulos, entre os quais as espécies reativas de oxigênio e TCR, permitem a translocação do NF- $\kappa$ B em sua forma ativa para o núcleo celular e expressão dos genes por ele

regulado (LI & VERMA, 2002). Entre os genes que sofrem essa regulação, está o CD95L, principal envolvido na apoptose dos linfócitos T (LI-WEBER, 2000).

A excessiva produção e o acúmulo das espécies reativas de oxigênio (EROS), além de serem resultado do próprio curso da resposta imune à infecção pelo HIV-1, sofre também influência direta dos genes virais (GOUGEON & MONTAGNIER, 1999; JARUGA *et al.*, 2002).

O produto do gene Tat, apesar de sozinho ser insuficiente para induzir apoptose, sensibiliza as células a apoptose induzida por um segundo sinal, como CD95, TCR ou CD4 (GOUGEON & MONTAGNIER, 1999). Esse processo envolve a geração de um estado pró-oxidativo intracelular, onde o produto do gene Tat após penetrar nas células não infectadas age diminuindo a atividade da superóxido dismutase (SOD), com conseqüente depleção de glutathiona reduzida (GSH) e aumento das EROS (LOOK, 1998; KRAMMER, 2000).

Associado a este fator indutor de apoptose, está a ação tóxica direta das EROS ao DNA e às mitocôndrias, ambos eventos pró-apoptóticos independentes de sinalização extracelular. Por esse mecanismo o evento primário, dano ao DNA ou a mitocôndria, acabam por romper a homeostasia mitocondrial com liberação das moléculas pró-apoptóticas citocromo C e o fator de ativação de proteases pró-apoptóticas (APAF-1), ativação da cascata das caspases que culmina em apoptose (RICH, 2000; HENGARTNER, 2000).

Apesar da necessidade de um melhor entendimento sobre os mecanismos de envolvimento das EROS na indução de apoptose em pacientes infectados pelo HIV-1, estratégias terapêuticas baseadas na suplementação antioxidante com N-acetilcisteína, Vitamina A, Vitamina E e Vitamina C, tem-se mostrado favorável em preveni-la (JARUGA *et al.*, 2002 ).

## 1.8 Alfa-TOCOFEROL

Os tocoferóis e tocotrienóis são os dois grupos de compostos lipossolúveis com atividade de vitamina E de ocorrência natural. Os membros destes grupos são designados como  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ou  $\delta$  segundo o número e posição dos substituintes metila ligados ao anel cromanol (STOCKER & AZZI, 2000).

Entre os tocoferóis de origem natural, o alfa-tocoferol é o principal homólogo encontrado, e também o único a não ser rapidamente depurado dos tecidos e plasma (STOCKER & AZZI, 2000).

O alfa-tocoferol e o gama-tocoferol são absorvidos na parte proximal do intestino delgado junto com os demais componentes lipossolúveis da alimentação que são emulsificados e formam as micelas mistas. Estas, posteriormente, formam os quilomícrons no complexo-de-golgi das células da mucosa intestinal, onde são armazenados em grânulos secretores que posteriormente podem ser excretados por exocitose para o compartimento linfático e então ganharem a circulação sangüínea via ducto-torácico. Na circulação sangüínea, os quilomícrons trocam apolipoproteínas com a lipoproteína de alta densidade (HDL) e sofrem ação das lipases lipoprotéicas endoteliais (LPL) originando os remanescentes de quilomícrons. Esses remanescentes de quilomícrons possuem a apolipoproteína B 48 (Apo B 48) e a apolipoproteína E (Apo E), essenciais para sua internalização nas células hepáticas via receptores específicos para tais apolipoproteínas. Nas células hepáticas, o alfa-tocoferol é então incorporado à lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) por ação da proteína transferidora de alfa-tocoferol ( $\alpha$ -TTP) e liberado para o plasma onde atingirá os diversos tecidos (STOCKER & AZZI, 2000; SCHWEDHELM *et al.*, 2003).

No plasma o alfa-tocoferol pode circular associado a qualquer uma das lipoproteínas, sendo que a contribuição das diversas frações lipoprotéicas relaciona-se a sua proporção relativa no plasma (STOCKER & AZZI, 2000). Já a ligação e internalização do alfa-tocoferol nas células extra-hepáticas, ocorre preferencialmente as moléculas associadas a lipoproteína de baixa densidade (LDL), que recebem o alfa-tocoferol no processo de troca de fosfolipídios catalisada pela proteína transferidora de fosfolipídios plasmática (PLTP) (MONTEIRO *et al.*, 2000; STOCKER & AZZI, 2000). Essa estreita relação da cinética do alfa-tocoferol com os lipídeos fazem das lipoproteínas plasmáticas determinantes primários da concentração circulante de alfa-tocoferol, assim

como, determinam sua proporção fisiologicamente ativa disponível tecidualmente (MONTEIRO *et al.*, 2000).

As necessidades diárias de vitamina E em indivíduos clinicamente saudáveis variam de 12-15mg segundo a 10ª edição do RDA (National Research Council, 1989). A concentração plasmática máxima de alfa-tocoferol é atingida aproximadamente 12 horas após a administração de uma simples dose de 400mg, com meia-vida de eliminação de 18 a 81 horas. Em indivíduos saudáveis, a concentração plasmática de alfa-tocoferol varia de 21 a 27  $\mu\text{M}$  (SCHWEDHELM *et al.*, 2003), já em indivíduos infectados pelo HIV-1 as concentrações de alfa-tocoferol são significativamente inferiores (ALLARD *et al.*, 1998).

O principal efeito do alfa-tocoferol é como antioxidante, seu caráter lipofílico determina sua localização preferencial nas membranas celulares, onde funciona como um potente quelante para o radical peroxil, prevenindo assim a propagação da cadeia oxidativa e do dano às membranas celulares (TRABER & PACKER, 1995).

Em decorrência de seu efeito antioxidante, o alfa-tocoferol afeta as vias de transdução de sinais intracelulares que utilizam o fator nuclear kappaB (NF- $\kappa$ B) e proteína ativadora-1 (AP-1) como fatores de transcrição, visto esses fatores responderem a estressores oxidativos como peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos (BAEUERLE & HENKEL, 1994; TRABER & PACKER, 1995; LI-WEBER *et al.*, 2002).

Além de seu efeito antioxidante, há numerosas evidências que o alfa-tocoferol possa influenciar no metabolismo celular por mecanismos não antioxidante. Entre esses efeitos estão sua capacidade de afetar o metabolismo do ácido araquidônico com inibição da síntese de prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) e ativação da proteína quinase C (PKC), uma enzima chave na transdução de sinal, e envolvida no crescimento e diferenciação celular. As implicações fisiológicas e patológicas de ambos os mecanismos de efeito do alfa-tocoferol são, contudo, não completamente entendidas e carecem de mais estudos para sua elucidação (TRABER & PACKER, 1995).

As implicações da vitamina E (alfa-tocoferol e homólogos), sobre o sistema imune, indicam um comprometimento tanto na imunidade celular como humoral na deficiência desse fator, em modelos animais. Já a suplementação com vitamina E, aumenta tanto a imunidade celular como humoral, sendo que em modelos experimentais em humanos, os efeitos sobre a imunidade mediada por células e sobre a imunidade inata são bem descritos, enquanto, os efeitos sobre a imunidade humoral são em sua maioria conhecidos com base em modelos animais (SCRIMSHAW & SANGIOVANNI, 1997).

Na infecção pelo HIV, estudos prévios demonstraram a capacidade da vitamina E em inibir a ativação do NF- $\kappa$ B, reduzindo assim a replicação viral *in vitro* (Suzuki & Packer, 1993).

Wang e colaboradores (1994) utilizando um modelo de AIDS murina, avaliaram os efeitos da suplementação com altas doses de vitamina E sobre o sistema imune, produção de citocinas e o estado nutricional e demonstraram o restabelecimento das concentrações séricas e teciduais de alguns micronutrientes (vitamina A, vitamina E, zinco, cobre) acompanhado da normalização na secreção de citocinas (IL-2, INF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , IL-6) pelos esplenócitos, proliferação dos esplenócitos e da atividade das células natural killer.

Estudos prévios também demonstraram efeito atenuador da vitamina E na mielotoxicidade induzida pelo AZT (Gogu, 1990; Geissler, 1994), o que associado a diminuição na peroxidação lipídica das membranas celulares pode ser responsável pelo efeito benéfico na preservação dos eritrócitos, dos pacientes soropositivos para o HIV-1, sob terapia anti-retroviral (Spada *et al*, 2003).

## 2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

Os pacientes infectados pelo HIV-1 apresentam um estado crônico de estresse oxidativo devido a quebra do balanço entre pró-oxidantes e antioxidantes, o que facilita tanto a replicação viral, como aumenta a susceptibilidade dos linfócitos à apoptose. Sendo assim, a reconstituição dos níveis séricos de alfa-tocoferol, um potente antioxidante e um composto reconhecidamente imunomodulador, pode apresentar efeito inibidor da replicação viral, melhorar o sistema imune celular e a secreção de citocinas, processos esses, que regem o comprometimento imune nesses pacientes. Assim sendo, a suplementação com vitamina E em pacientes soro positivos para o HIV-1, precisa ser mais bem avaliada.

### Objetivo Geral

O objetivo geral deste estudo foi investigar os efeitos da suplementação de vitamina E sobre o sistema imune e a evolução da infecção pelo HIV-1, através do comportamento de parâmetros laboratoriais marcadores do processo infeccioso.

### Objetivos Específicos

- Avaliar o nível de deficiência de alfa-tocoferol e o potencial de restabelecimento deste micronutriente pela terapia suplementar proposta, através das determinações dos níveis séricos de alfa-tocoferol;
- Avaliar o potencial anti-retroviral, suplementar, do alfa-tocoferol em associação com os fármacos anti-retrovirais, através das determinações dos níveis plasmáticos de RNA do HIV-1;
- Avaliar o efeito do alfa-tocoferol no ritmo de progressão da infecção pelo HIV-1, através das determinações de marcadores de valor prognóstico, CD4<sup>+</sup>, relação CD4:CD8, RNA do HIV-1;
- Avaliar o efeito citoprotetor do alfa-tocoferol, através dos índices de viabilidade celular em linfócitos periféricos.



### **3.0 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Casuística**

Participaram deste estudo 69 voluntários comprovadamente soropositivos para o HIV, diagnosticados por dois métodos de ELISA com princípios metodológicos distintos e confirmados por imunofluorescência indireta, conforme recomendado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 1996), com indicação clínica para iniciarem o tratamento com fármacos anti-retrovirais com base nos critérios determinados pela Coordenação Nacional de DST/AIDS. A triagem clínica dos pacientes foi realizada por médicos infectologistas do Ambulatório de DST/AIDS do Centro de Saúde II da Secretaria da Saúde do Município de Florianópolis. Os pacientes devidamente esclarecidos, que aceitaram participar do estudo, após assinarem o termo de consentimento, foram encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, para realizarem a coleta de amostra de sangue para se determinar os níveis basais dos parâmetros laboratoriais propostos. A realização deste estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, conforme consta do processo nº 026/99, cujo parecer encontra-se em anexo (ANEXO 3).

Todos os pacientes que participaram deste estudo foram classificados como assintomáticos, de acordo com as Recomendações do Ministério da Saúde e como portador do HIV (Z-21) de acordo com o Código Internacional de Doenças (BRASIL, 2000; OMS, 1998). Os 29 pacientes que concluíram sua participação no estudo foram submetidos à terapia anti-retroviral conforme consta da TABELA 3.1. Os demais pacientes foram excluídos do estudo por apresentarem intolerância ou não adesão à terapia proposta.

TABELA 3.1-Protocolos dos tratamentos anti-retrovirais a que foram submetidos os pacientes durante o estudo.

| Tratamento anti-retroviral | Grupo Controle<br>n=15 | Grupo Estudo<br>n=14 |
|----------------------------|------------------------|----------------------|
| AZT + 3TC + NVP            | 8                      | 6                    |
| AZT + ddl + NVP            | 2                      | 4                    |
| AZT + 3TC + ddl            | 1                      | -                    |
| AZT + 3TC                  | 2                      | 1                    |
| AZT + 3TC + IDV            | 2                      | 2                    |
| ddl + 3TC + NFV            | -                      | 1                    |

n= número de pacientes; AZT = zidovudina; 3TC = lamivudina;

NVP = nevirapina; ddl = didanosina; NFV = nelfinavir; IDV=indinavir

As amostras de sangue venoso dos pacientes foram coletadas por punção antero-cubital, pela manhã, após jejum de 12 a 14 horas, utilizando-se sistema a vácuo. Foram coletados um total de 8 tubos, sendo retirados, aproximadamente, 10 mililitros de sangue em tubo (1) contendo heparina, 12 mililitros em cada tubo (4) sem anticoagulante e 8 mililitros em cada tubo (3) contendo EDTA.

Após esta coleta de sangue, todos os participantes deste estudo iniciaram o tratamento com os fármacos anti-retrovirais prescritos pelos médicos, assim como iniciaram o tratamento suplementar, constituído de placebo ou alfa-tocoferol. O conteúdo era desconhecido pelos médicos, pesquisadores e pacientes, portanto, o estudo realizado foi do tipo duplo cego, randomizado, controlado por placebo. Todos os pacientes que concluíram sua participação neste estudo apresentaram-se regularmente para acompanhamento clínico e terapêutico durante os 180 dias de duração do mesmo. Os pacientes submeteram-se, ainda, as coletas de sangue para determinação dos níveis de carga viral, linfócitos CD4<sup>+</sup>, linfócitos CD8<sup>+</sup>, relação CD4/CD8, linfócitos viáveis, linfócitos em apoptose, linfócitos inviáveis, IgG, IgA, IgM,  $\beta_2$ -microglobulina, alfa-

tocoferol, colesterol total, VLDL, LDL e HDL aos 60, 120 e 180 dias após o início dos tratamentos propostos, para avaliação dos mesmos.

Os pacientes que participaram do estudo foram divididos em dois grupos, de acordo com o tratamento suplementar a que foram submetidos. O grupo controle foi constituído pelos pacientes que, além dos fármacos anti-retrovirais, ingeriram placebo, enquanto o grupo de estudo foi constituído pelos pacientes que, além dos fármacos anti-retrovirais, ingeriram 800mg/dia de alfa-tocoferol, em duas administrações de 400mg pela manhã e à noite, durante o período de realização do estudo. O alfa-tocoferol utilizado neste estudo foi produzido e comercializado pela NOVAQUIM-SIGMA com a denominação de E-RADICAPS®.

A dose diária de 800 mg utilizada neste estudo baseia-se em observações prévias e recomendações internacionais quanto: (i) efetividade antioxidante (STEPHENS, N.G., *et al.* 1996; SCHULTZ, M., *et al.* 1995); (ii) e segurança (MEYDANY, S.N., *et al.* 1998).

### **3.2 Fracionamento do sangue**

O soro e o plasma foram obtidos por centrifugação do sangue, em centrífuga clínica Celm, modelo LS-II, a 2500 rpm (1050g), durante 10 minutos. O soro e o plasma obtidos foram novamente centrifugados, por 10 minutos a 2500 rpm (1050 g), para evitar a contaminação com hemácias.

### **3.3 Armazenamento das amostras de soro para determinação de Alfa-Tocoferol**

As amostras de soro para a determinação de alfa-tocoferol foram armazenadas em tubos de crio-armazenamento a -80° Celsius em congelador horizontal modelo ULT 2090-3-D14, produzido pela Revco Scientific Incorporation, Asheville U.S.A., no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina.

### 3.4 Isolamento das células mononucleares

Após centrifugação do sangue a 1500 rpm (378 g) por 15 minutos, a camada de glóbulos brancos formada, entre o plasma e as hemácias, foi removida com pipeta de Pasteur e ressuspendida com 8 mL de solução salina tamponada com fosfato 0,01M (PBS), pH 7,4. Em seguida, a suspensão de células, contendo leucócitos e hemácias, foi transferida lentamente para outro tubo contendo 2,5 mL de Ficoll-Paque, densidade 1,077 g/mL (*Sigma Chemical Company, Sant Louis, U.S.A.*) e centrifugadas a 1500 rpm (378 g) durante 20 minutos em centrífuga clínica Celm, modelo LS-II. A camada de células localizada entre o tampão e o Ficoll-Paque foi retirada com pipeta de Pasteur, lavada duas vezes em PBS e sedimentada por centrifugação a 1000 rpm (168 g) por 10 minutos. Após, as células mononucleares terem sido ressuspendidas em meio RPMI 1640 com 25 mM de HEPES e 2 mM de L-glutamina (*Sigma Chemical Company, Sant Louis, U.S.A.*), suplementado com 10% de soro bovino fetal inativado pelo calor, adicionou-se 10 UI/mL de penicilina, 10 µg/mL de estreptomicina e 2,5 µg/mL de anfotericina B e mantidas por 48 horas a 37° C, em estufa com 5% de CO<sub>2</sub>.

### 3.5 Ensaio de viabilidade celular

A determinação dos linfócitos viáveis, em apoptose e mortos foi realizada utilizando-se o conjunto *LIVE/DEAD*<sup>®</sup> (L-3224), contendo calceína AM e homodímero-1 de etídio (EthD-1) (*Molecular Probes Incorporation, Eugene, Oregon, EUA*).

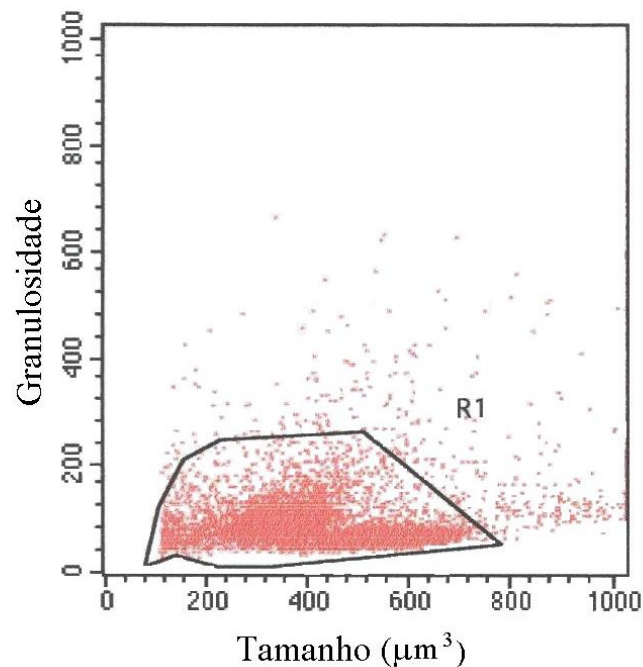
Por este método, as células viáveis são distinguidas pela presença de atividade intracelular da esterase, a qual é determinada pela conversão enzimática da calceína AM não fluorescente, que penetra na célula através de sua membrana íntegra, em calceína intensamente fluorescente. A fluorescência da calceína polianiónica é retida nas células viáveis, produzindo nestas uma intensa e uniforme fluorescência verde. Nas células em processo de morte celular verifica-se, progressivamente, menor atividade das esterases e maiores alterações físicas e/ou bioquímicas da membrana celular. Em consequência destas alterações, as células em apoptose tornam-se progressivamente incapazes de impedir a entrada de EthD-1, o qual tem sua fluorescência aumentada em 40 vezes após ligar-se aos ácidos nucleicos, produzindo deste modo, uma fluorescência vermelha. As células inviáveis, por não apresentarem atividade esterásica são marcadas intensamente pelo EthD-1, o que as distingue das demais células.

Neste estudo, para a avaliação da viabilidade, através do conjunto reativo *LIVE/DEAD*<sup>®</sup> (L-3224), as células mononucleares foram mantidas em 2,0 mL de meio RPMI 1640 com 25 mM de HEPES e 2 mM de L-glutamina, suplementado com 10% de soro bovino fetal inativado, 10 IU/mL de penicilina, 10 µg/mL de estreptomicina e 2,5 µg/mL de Fungison, durante 48 horas a 37° Celsius, em estufa com atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub>. Após este tempo, as células foram lavadas por centrifugação a 1000 rpm (168 g) por 10 minutos e ressuspensas com solução de PBS pH 7,4. Após a segunda centrifugação, as células foram marcadas com 200 µL da solução de uso de calceína AM 1 µM e brometo de etídio 8 µM em solução de PBS, pH 7,4. Após 15 minutos em repouso, o ensaio de viabilidade das células foi realizado no Laboratório Médico Santa Luzia, em citômetro de fluxo modelo FACSCallibur (*Becton Dickinson Immunocytometry*

*Systems, San Jose, CA, U.S.A.*), através de dois softwares próprios às análises imunofenotípicas, o CELLQuest e o PAINT-A-GATE.

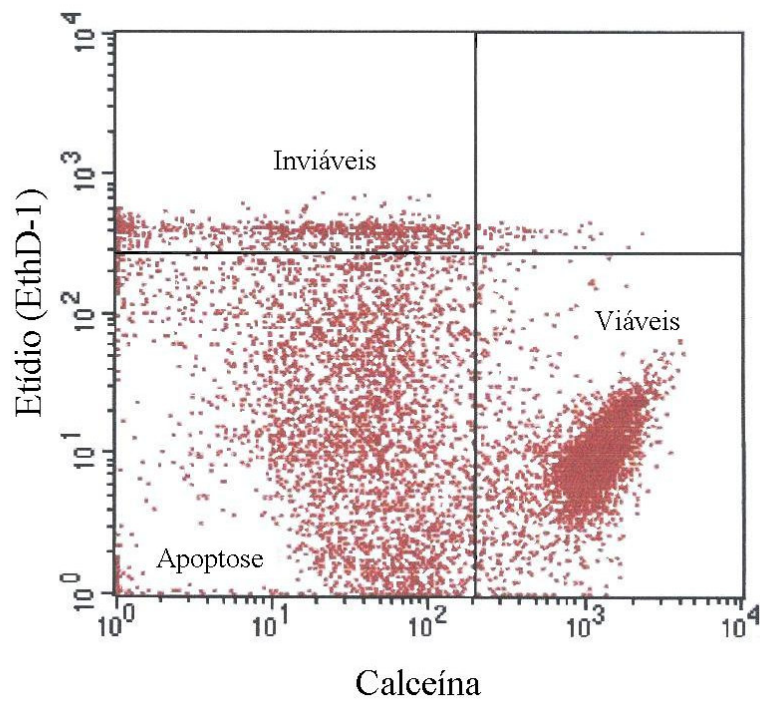
Inicialmente, as células mononucleares marcadas com os fluorocromos são adquiridas no citômetro de fluxo modelo FACSCalibur (*Becton Dickinson, U.S.A.*), e através do programa CELLQuest, as células e/ou estruturas foram selecionadas de acordo com o seu volume e sua granulosidade, sendo que as células e/ou estruturas maiores, entre os quais encontram-se os monócitos, foram excluídas visto que a análise de sua viabilidade não foi objeto deste estudo. A seleção inicial das células foi realizada conforme pode ser observado na figura 2.

Na figura 3 verifica-se que entre as células selecionadas existem três grupos distintos, os quais podem ser classificados como: a) as células viáveis, que constituem o grupo de células localizadas no quadrante inferior direito e que foram marcadas mais intensamente pela calceína; b) as células em apoptose, que constituem o grupo de células localizado no quadrante inferior esquerdo e que foram marcadas pela calceína e pelo EthD-1, com intensidade variada, de acordo com o estágio do processo de apoptose em que se encontram e c) as células mortas, que se encontram nos quadrantes superiores, as quais foram intensamente marcadas pelo brometo de etídio. Entretanto, é importante ressaltar que este programa não permite excluir todas as células e/ou estruturas que não se deseja analisar, bem como não permite quantificar cada um dos grupos descritos anteriormente. Portanto, as imagens das células e/ou estruturas selecionadas devem ser salvas em arquivo específico de modo que seja possível a sua análise através de outro programa, o PAINT-A-GATE.

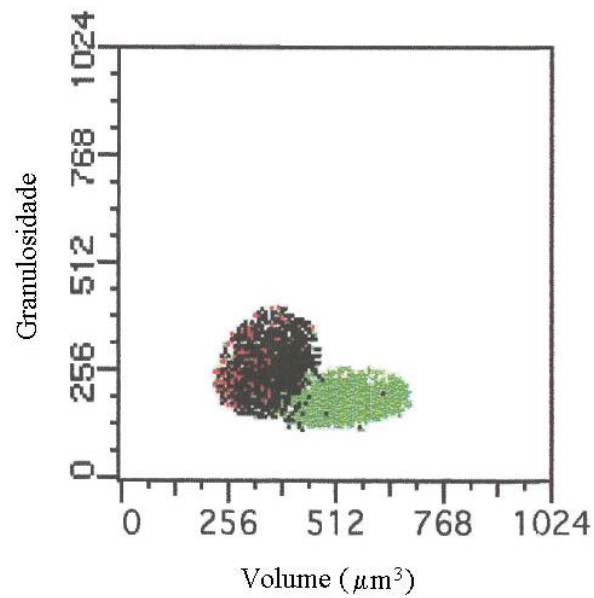


**FIGURA 2.** Seleção das células e/ou estruturas, de acordo com o seu volume e sua granulosidade, através do programa CELLQuest.

No PAINT-A-GATE realiza-se novamente a seleção das células e/ou estruturas de acordo com o seu volume e sua granulosidade, como pode ser observado na figura 4. Assim, as células mononucleares maiores, como os monócitos e as células que apresentam granulações, como os segmentados, que não foram separadas através do isolamento das células mononucleares pelo Ficoll-Paque, foram excluídas. Deste modo pode-se afirmar, com elevado grau de confiabilidade, que foi avaliada a viabilidade dos linfócitos.



**FIGURA 3.** Distribuição das células e/ou estruturas selecionadas, através do CELLQuest, de acordo com a intensidade com que estas foram marcadas pela calceína e/ou brometo de etídio.

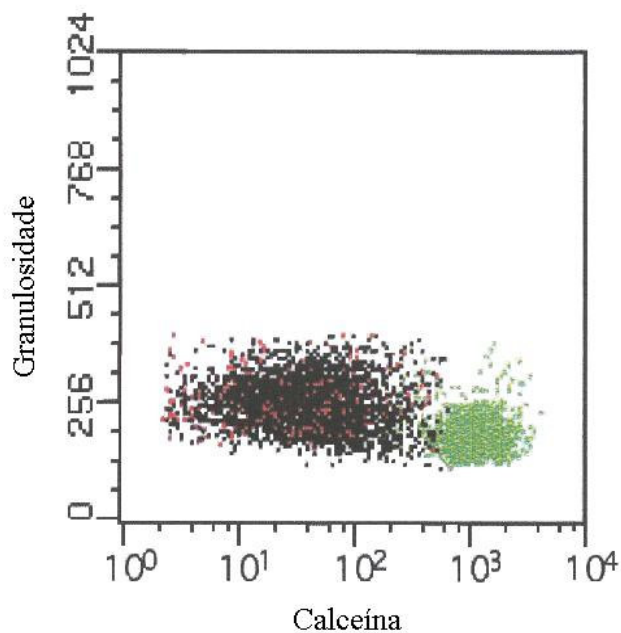


**FIGURA 4.** Células selecionadas e analisadas através do PAINT A GATE, de acordo com o seu volume e sua granulosidade.



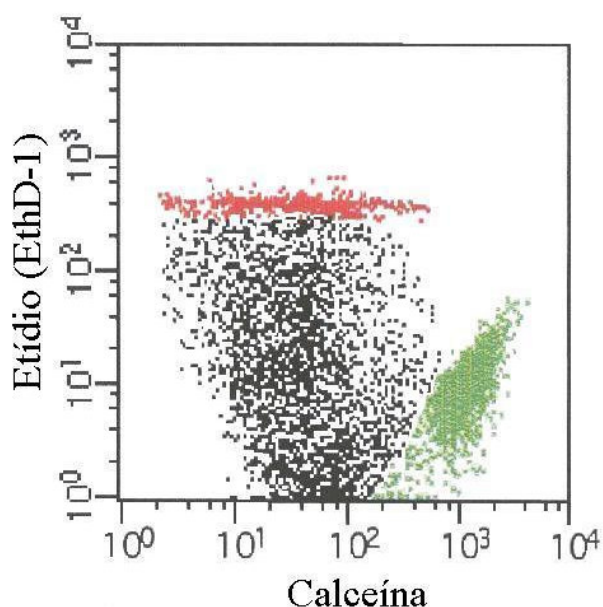
Na tela, que constitui a figura 5, visualiza-se, todas as células (linfócitos) selecionadas, distribuídas de acordo com a sua granulidade e a intensidade com que foram marcadas pela calceína.

Na imagem correspondente à figura 6 observa-se que a distribuição das células é semelhante àquela verificada na figura 3. Entretanto, o programa PAINT-A-GATE permite que os linfócitos dos três grupos distintos sejam selecionados e coloridos. Inicialmente são, então, excluídas as estruturas que se concentram próximo ao eixo *y*, visto que são, provavelmente, fragmentos celulares restantes. Em seguida colorimos os linfócitos marcados mais intensamente com calceína, que constituem o grupo localizado mais à direita, em verde. Após esta etapa, os linfócitos marcados mais intensamente pelo brometo de etídio, que formam o grupo localizado na parte superior, foram coloridos de vermelho, e os linfócitos marcados gradativamente com menos intensidade pela calceína e com mais intensidade pelo brometo de etídio, que constituem o grupo intermediário, foram coloridos de branco, mas que, em consequência do fato de o fundo da imagem na tela do computador ser negra, aparecem na figura 5 como pontos negros.



**FIGURA 5.** Distribuição das células selecionadas, através do PAINT A GATE, de acordo com a sua granulidade e a intensidade com que foram marcadas pela calceína.

Assim, após a seleção das células e/ou estruturas através do CELLQuest e do PAINT A GATE, considerando sempre a granulosidade e o seu volume, e a exclusão final das estruturas que se encontram muito próximas ao eixo **y**, ou seja, foram marcadas praticamente apenas pelo brometo de etídio, pode-se afirmar, com elevado grau de certeza, que serão analisados apenas os linfócitos (Figura 6).



**FIGURA 6.** Distribuição dos linfócitos, obtida através do PAINT A GATE, de acordo com a intensidade de sua marcação pela calceína e/ou pelo brometo de etídio.

|                                       |        |                           |
|---------------------------------------|--------|---------------------------|
| <span style="color: red;">■</span>    | 6,18%  | Eventos em vermelho       |
| <span style="color: green;">■</span>  | 54,26% | Eventos em verde          |
| <span style="color: yellow;">■</span> | 0,0%   | Eventos em amarelo        |
| <span style="color: purple;">■</span> | 0,0%   | Eventos em violeta        |
| <span style="color: cyan;">■</span>   | 0,0%   | Eventos em azul claro     |
| <span style="color: black;">■</span>  | 39,56% | Eventos em preto          |
| <span style="color: gray;">■</span>   | 0,0%   | Eventos não classificados |

**FIGURA 7.** Resultado final da avaliação da viabilidade celular de linfócitos.

Ao final da avaliação da viabilidade celular dos linfócitos, realizada como descrito, obtém-se a proporção dos linfócitos viáveis, em processo de apoptose e inviáveis (Figura 7). Entretanto, é importante assinalar que os linfócitos não marcados com uma das cores escolhidas são reconhecidos como eventos não classificados, devendo-se então proceder a correção da falha através da marcação com calceína e brometo de etídio, utilizando-se o PAINT A GATE.

O conjunto reativo *LIVE/DEAD*<sup>®</sup> (L-3224), contendo calceína AM e homodímero-1 de etídio (EthD-1) (*Molecular Probes Incorporation, Eugene, Oregon, EUA*), utilizado neste estudo, foi desenvolvido para quantificar simultaneamente células viáveis e células mortas, mas pode também ser utilizado para quantificar células em apoptose (JACOBSEN, 1996; WEIL, 1996; MOLECULAR PROBES INCORPORATION, 1999). Entretanto, é importante ressaltar que este método não é específico para quantificar células em apoptose.

### **3.6 Contagem de linfócitos CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>**

As contagens de linfócitos CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> foram realizadas através de citômetro de fluxo modelo FACS Count<sup>™</sup> (*Becton Dickinson U.S.A.*), em amostras de sangue total, colhidas em tubos contendo EDTA, por sistema de vácuo, utilizando conjuntos reativos contendo anticorpos monoclonais CD4/CD3 e CD8/CD3 (*Becton Dickinson U.S.A.*) para quantificar os linfócitos CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>. A relação CD4/CD8 foi obtida pela divisão do número de linfócitos CD4<sup>+</sup> pelo número de linfócitos CD8<sup>+</sup>. Para calibração do sistema foram utilizados os conjuntos FACSCount<sup>™</sup> Control que contém os controles: zero, baixo, médio e alto. As contagens de linfócitos CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> foram realizadas no Laboratório Análises Clínicas do Hospital Universitário, da Universidade Federal de Santa Catarina.

### 3.7 Determinação dos níveis plasmáticos de RNA do HIV

A quantificação das partículas virais foi realizada por metodologia NASBA (*nucleic acid sequence-based amplification*) através do teste NucliSens HIV-1 QT, produzido pela Organon Teknika BV (Boxtel, Netherlands), que é um teste de amplificação do RNA do HIV-1 presente na amostra. A quantidade do RNA amplificado é medida por eletroquimioluminescência (ECL).

O teste NucliSens HIV-1 QT compreende quatro conjuntos reativos diferentes, um para cada fase distinta:

- a) *NucliSens Lysis Buffer* para a liberação de ácidos nucleicos
- b) *NucliSens HIV QT* para o isolamento dos ácidos nucleicos
- c) *NucliSens HIV QT* para a amplificação dos ácidos nucleicos
- d) *NucliSens HIV QT* para a detecção dos ácidos nucleicos

A liberação dos ácidos nucleicos é realizada através da adição de 2mL de amostra de plasma ao tampão de lise, que contém tiocianato de guanidina e Triton X-100. Nesta etapa são desintegradas quaisquer partículas virais e células, bem como, inativadas as RNAses e DNAases presentes na amostra. Aos ácidos nucleicos liberados, presentes no tampão de lise, são adicionados três RNA sintéticos (Qa, Qb e Qc) de concentração conhecida, respectivamente, alta, média e baixa, os quais servem como calibradores internos. Cada um destes RNA sintéticos, utilizados como calibradores internos, difere do RNA do HIV de tipo selvagem (WT, do inglês *wild type*), presente na amostra, em apenas uma pequena seqüência de bases. Em meio de elevada concentração salina, os ácidos nucleicos presentes no tampão ligam-se ao dióxido de silício adicionado à solução. As partículas de dióxido de silício funcionam como fase sólida e são lavadas com o tampão de lavagem (2X), etanol 70% (2X) e acetona (1X). Em seguida, os ácidos nucleicos são eluídos da fase sólida com tampão de eluição.

A amplificação dos ácidos nucleicos eluídos baseia-se na transcrição repetida, onde são sintetizadas múltiplas cópias de cada HIV de tipo selvagem e da seqüência alvo do calibrador de RNA, pela polimerase de RNA do T7, através de uma molécula de DNA intermediária que contém o promotor de cadeia dupla para a polimerase de RNA do T7. Cada cópia formada entra em um novo ciclo

de amplificação. A metodologia utilizada não requer separação de cadeias, deste modo, o processo de amplificação é isotérmico e contínuo.

A detecção do RNA do HIV-1 presente na amostra baseia-se no princípio da eletroquimioluminescência do leitor *NucliSens Reader*. Para diferenciar os RNA amplificados (WT, Qa, Qb e Qc) adicionam-se alíquotas da amostra a quatro diferentes soluções de hibridização específicas para um dos RNA amplificados. Os RNA são hibridizados com esferas-oligo (um oligo ligado a esferas revestidas com estreptavidina) e uma sonda marcada com rutênio. As esferas paramagnéticas que transportam as sondas hibridizadas amplificadas são capturadas à superfície de um eletrodo por meio de um campo magnético. A voltagem aplicada ao eletrodo desencadeia a reação de eletroquimioluminescência. A luz emitida pelas sondas hibridizadas marcadas com rutênio é proporcional à quantidade de RNA amplificado. Os cálculos baseados nas quantidades relativas dos quatro RNA amplificados revelam a quantidade de RNA do HIV originalmente presente na amostra.

### **3.8 Determinação dos níveis séricos de IgA, IgG e IgM**

Os níveis séricos IgA, IgG e IgM foram determinados por nefelometria, utilizando-se anti-soros específicos produzidos pela Beckman Instruments Inc. USA. As determinações foram realizadas em analisador automático modelo Array<sup>®</sup> 360 System produzidos pela Beckman Instruments Inc. Brea, CA. USA.

### **3.9 Determinação dos níveis séricos de Alfa-Tocoferol**

Os níveis séricos de alfa-tocoferol foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), a partir de 250 µL de soro, usando acetato de alfa-tocoferol (Sigma Chemical Company, Sant Louis, U.S.A.) como padrão interno, em uma concentração final de 200µM. O soro foi mixado com 250µL de sódio dodecil sulfato (SDS) 4mM, desproteinizado com metanol e extraído com solução de n-hexano contendo 0,5 g/L de BHT. As amostras foram então centrifugadas a 2500 rpm (1050 g) por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante contendo a fase orgânica foi removido e seco sob fluxo de nitrogênio.

As amostras foram ressuspensas em 250µL de fase móvel e injetadas no sistema cromatográfico através de injetor automático.

O ensaio cromatográfico obedeceu as seguintes condições, amostras mantidas a 4°C, alíquotas de 50µL injetadas no sistema cromatográfico, coluna CLC-ODS série AT 0175 (Shimadzu, Japão), fluxo de 1,0 mL/minuto em sistema isocrático, com fase móvel constituída de metanol/acetoneitrila/clorofórmio, na relação 35:35:30 (v/v/v), previamente filtrada em filtro Millex de porosidade 0,22 µm (Millipore, Rio de Janeiro, Brasil), em um tempo total de corrida de 20 minutos. O alfa-tocoferol foi monitorado em 292 nm, e o acetato de alfa-tocoferol a 284nm em detector UV-diode Array (Shimadzu, Japão) utilizando o software Class-LC 10, LC-work station.

As concentrações das amostras foram obtidas através de curva de calibração de pontos múltiplos de padrão externo de alfa-tocoferol (Sigma Chemical Company, Sant Louis, U.S.A.) e correção com o padrão interno de acetato de alfa-tocoferol.

Constituíam ainda o sistema cromatográfico, bomba LC 10AD, módulo de comunicação CBM 10 A e injetor automático SIL-10A todos da Shimadzu, Japão.

### **3.10 Determinação dos níveis séricos de colesterol total, do colesterol das frações lipoprotéicas e dos triglicerídeos**

Os níveis séricos de colesterol total foram determinados por método enzimático, através de conjunto reagente produzido pela Dade Behring Incorporation Newark, U.S.A.. Na determinação do colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDL-colesterol), foram inicialmente precipitadas as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e de muito baixa densidade (VLDL), em pH 5,7, pela adição do reagente fosfotúngstico tamponado, produzido pela Dade Behring Incorporation Newark, U.S.A.. A centrifugação do soro pré-tratado resulta em um sobrenadante límpido que contém o HDL-colesterol. O HDL-colesterol é determinado através do mesmo conjunto reagente utilizado para a

determinação dos níveis séricos de colesterol total. Os níveis séricos de LDL-colesterol foram obtidos através da fórmula de Friedewald (FRIEDEWALD, 1972):

$$\text{LDL-colesterol} = \text{colesterol total} - (\text{triglicérides} \div 5 + \text{HDL-colesterol})$$

Os níveis séricos de VLDL-colesterol foram obtidos através da divisão da concentração de triglicérides por 5 (cinco).

Os níveis séricos dos triglicerídeos foram determinados por método enzimático, através de conjunto reagente produzido pela Dade Behring Incorporation Newark, U.S.A..

As determinações dos níveis séricos de colesterol total e HDL-colesterol e triglicérides foram realizadas através do sistema automático de química clínica Dimension AR<sup>®</sup> da Dade Behring Incorporation Newark, U.S.A..

#### 4. INFERÊNCIA ESTATÍSTICA

Os resultados das variáveis estudadas foram expressos através da média aritmética e desvio padrão. As variáveis estudadas foram comparadas inter e intra-grupos. Na análise inter-grupos o efeito dos tratamentos ao longo do tempo foi avaliado através de Análise de Variância Multivariada de Medidas Repetidas, utilizando-se os testes de Pillai's, Lambda de Wilk's, Hotelling's e Roy's, considerando o efeito do fator tempo, e a interação entre os fatores tempo e tratamento. As análises intra-grupo foram realizadas por análise de contrastes ortogonais: contraste de repetição, contraste de diferença e contraste de Helmert.

Nesse estudo, foi utilizado o nível de significância de  $p < 0.05$ .



## 5. RESULTADOS

### 5.1 Níveis plasmáticos de RNA do HIV-1

A inferência estatística utilizada mostrou que as médias dos níveis plasmáticos de RNA do HIV-1 apresentaram diminuição significativa em consequência do tempo de tratamento, nos grupos estudados ( $p=0.0001$ ).

Os pacientes do grupo controle apresentaram, aos 60 dias de tratamento anti-retroviral, níveis médios de RNA do HIV-1 significativamente menores que a média dos níveis basais. Aos 120 dias de tratamento, verificou-se diminuição significativa da média em relação à média basal e aquela verificada aos 60 dias de tratamento. Entretanto, não se verificou diminuição significativa dos níveis plasmáticos de RNA do HIV-1 entre 120 e 180 dias de tratamento (Tabela 2).

O grupo estudo apresentou, aos 60 dias de tratamento, diminuição significativa na média de níveis plasmáticos de RNA do HIV-1 em relação à média dos níveis basais. As médias de RNA do HIV-1 observadas aos 120 e 180 dias de tratamento, também foram menores que aos 60 dias de tratamento, mas estas diferenças não foram estatisticamente significativas (Tabela 2).

A análise de variância multivariada de medidas repetidas não caracterizou diferença significativa nos níveis plasmáticos de RNA do HIV-1 entre os tratamentos ao longo do tempo ( $p=0.7343$ ) (Tabela 2).

**TABELA 02.** Níveis basais de RNA do HIV (cópias/mL), e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média*                 | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média*               | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 148.340 <sup>a</sup>   | 186.314          | 2900            | 720.000         | 113.428 <sup>a</sup> | 78.418           | 25.000          | 310.000         |
| 60              | 3536 <sup>b</sup>      | 3554             | 80              | 12000           | 4322 <sup>b</sup>    | 7171             | 480             | 28.000          |
| 120             | 865 <sup>c</sup>       | 1215             | 80              | 4900            | 1975 <sup>c</sup>    | 3618             | 80              | 14.000          |
| 180             | 1191 <sup>c</sup>      | 1415             | 80              | 4600            | 1299 <sup>c</sup>    | 2395             | 80              | 9000            |

Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.0001$

Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.7343$

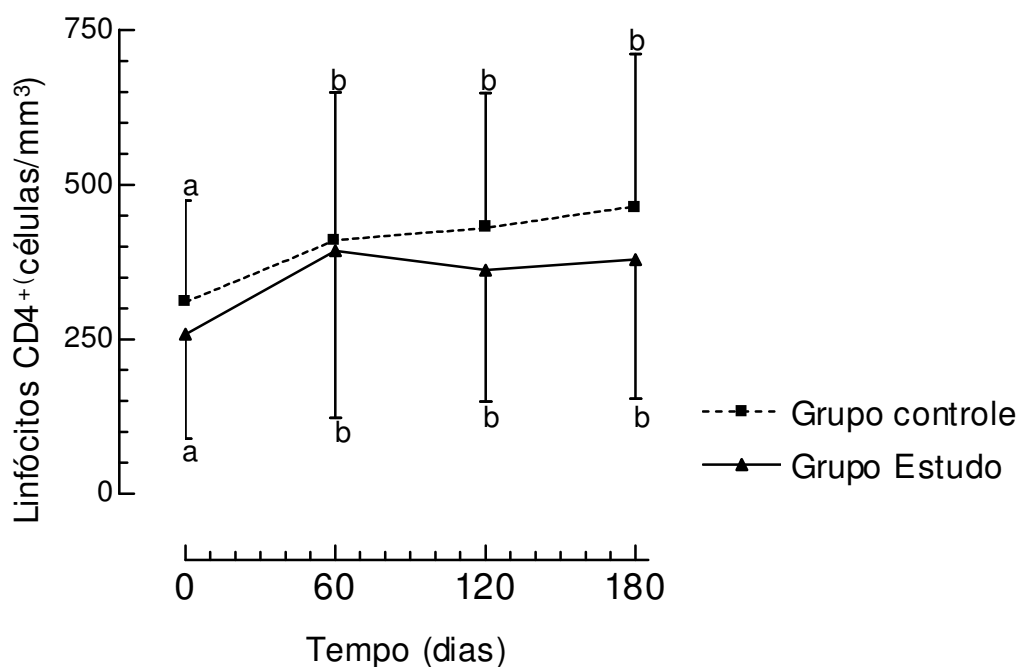
\*Comparações múltiplas entre os tempos em cada tratamento avaliado através dos contrastes de repetição, diferença e Helmert. Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

n = Número de pacientes estudados

## 5.2 Número de linfócitos CD4<sup>+</sup>

A determinação do número de linfócitos CD4<sup>+</sup> demonstrou aumento significativo em consequência do tempo de tratamento nos dois grupos estudados ( $p=0.0002$ ). Os pacientes dos dois grupos apresentaram, aos 60 dias de tratamento, aumento significativo das médias de contagens do número de linfócitos CD4<sup>+</sup> em relação às respectivas médias basais. Já, aos 120 e 180 dias de tratamento não se verificou alteração significativa do número de linfócitos CD4<sup>+</sup> em relação às médias verificadas aos 60 dias de tratamento (Figura 8).

A análise de variância multivariada de medidas repetidas não caracterizou diferença significativa nas determinações quantitativas do número de linfócitos CD4<sup>+</sup> entre os fatores tempo e tratamentos ( $p=0.6300$ ) (Figura 8).



**Figura 8.** Linfócitos CD4<sup>+</sup> (células/mm<sup>3</sup>) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

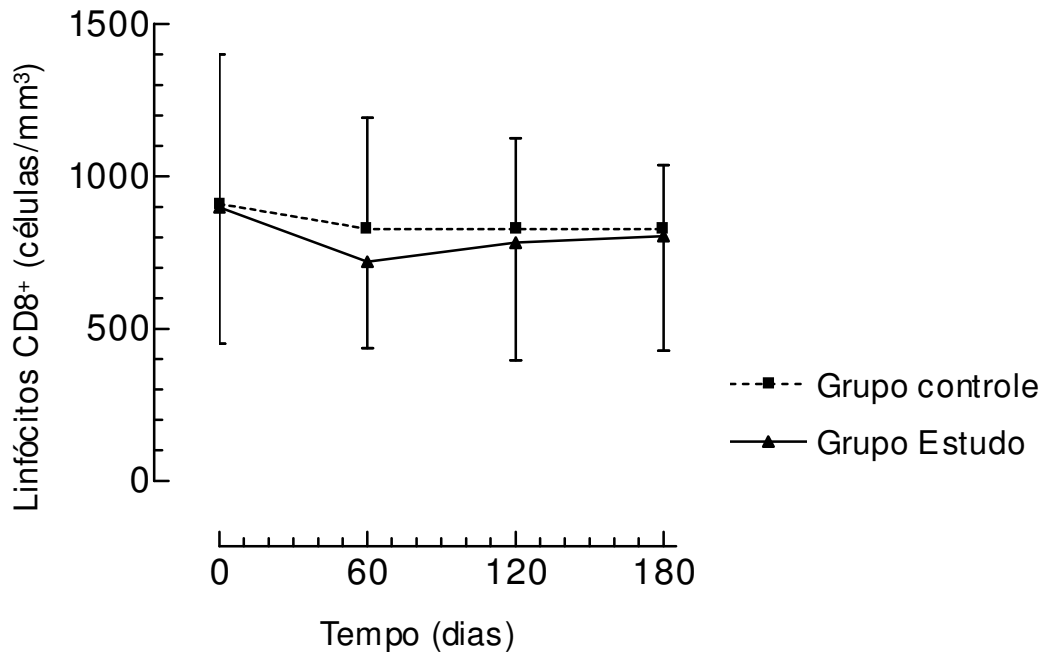
Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.0002$

Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.6300$

Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

### 5.3 Número de linfócitos CD8<sup>+</sup>

As determinações de linfócitos CD8<sup>+</sup> aos 60, 120 e 180 dias de tratamento anti-retroviral não apresentaram alterações significativas, quando comparados com os níveis séricos basais destas células nos dois grupos estudados ( $p=0.1376$ ), assim como, não caracterizaram diferenças significativas na interação entre os fatores tempo e tratamentos ( $p=0.9150$ ) a que os dois grupos foram submetidos (Figura 9).



**Figura 9.** Linfócitos CD8<sup>+</sup> (células/mm<sup>3</sup>) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

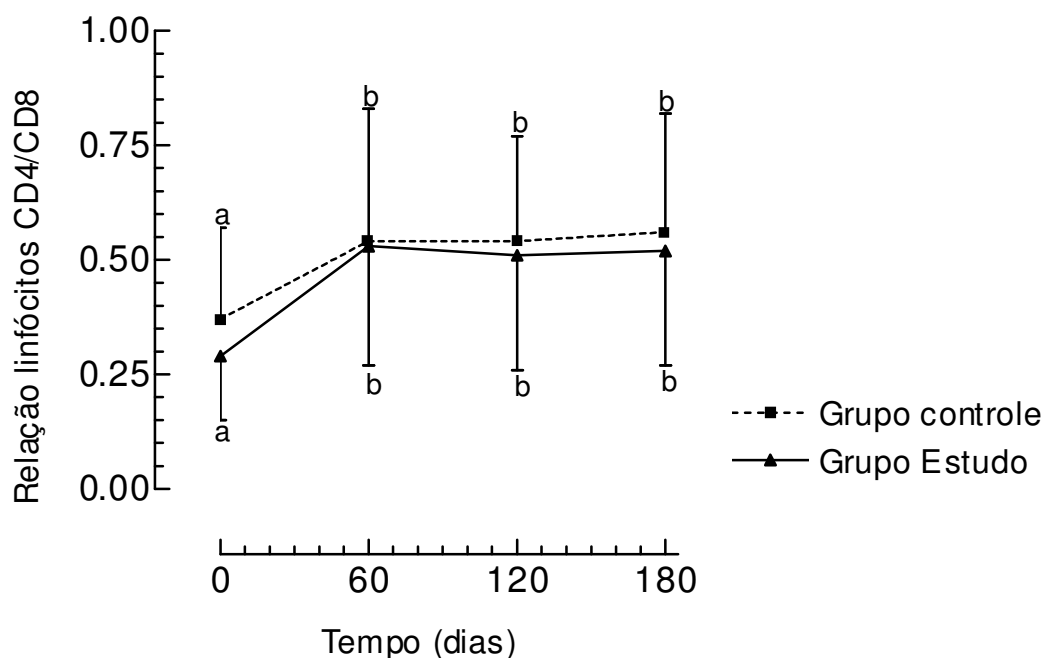
Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.1376$

Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.9150$

#### 5.4 Relação entre o número de linfócitos CD4<sup>+</sup> e o número de linfócitos CD8<sup>+</sup>

A relação entre o número de linfócitos CD4<sup>+</sup> e linfócitos CD8<sup>+</sup> apresentou aumento significativo em consequência do tempo de tratamento, nos dois grupos estudados ( $p=0.0001$ ). Os dois grupos apresentaram, aos 60 dias de tratamento, aumento significativo das médias de relação CD4/CD8 em relação às respectivas médias basais. Entretanto, aos 120 e 180 dias de tratamento não se verificou alteração significativa das médias de relação CD4/CD8 em relação às médias verificadas aos 60 dias de tratamento (Figura 10).

A análise de variância não caracterizou diferença significativa na relação CD4/CD8 entre os tratamentos ao longo do tempo ( $p=0.8935$ ) (Figura 10).



**Figura 10.** Relação CD4/CD8 nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.0001$

Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.8935$

Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

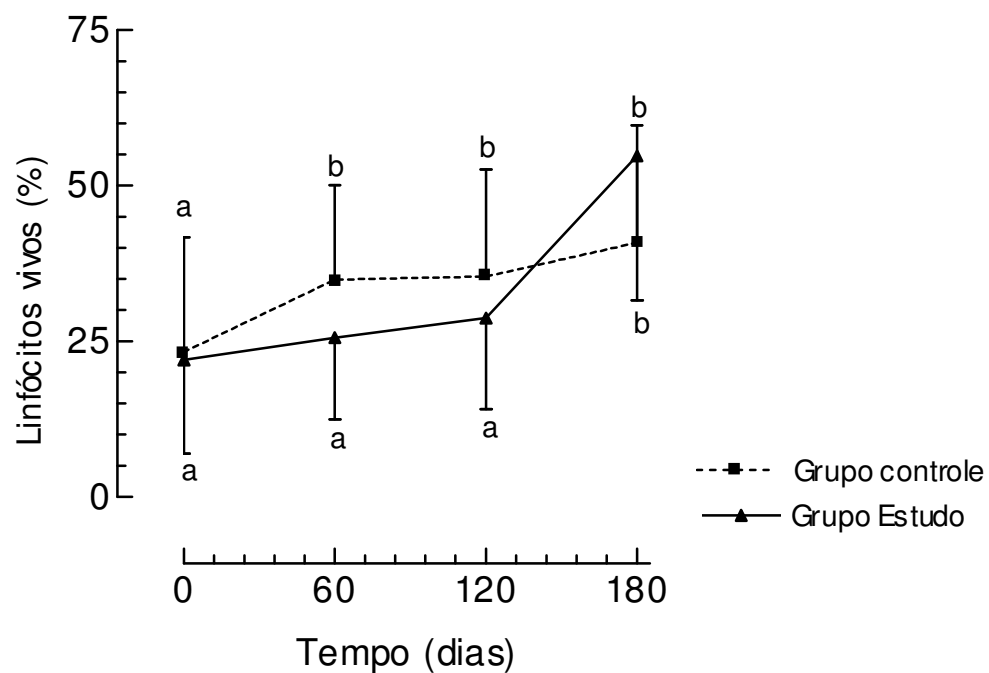
### 5.5 Percentual de linfócitos vivos

O percentual de linfócitos vivos apresentou aumento significativo em consequência do tempo de tratamento, nos dois grupos estudados ( $p=0.0002$ ).

Os pacientes do grupo estudo apresentaram, aos 180 dias de tratamento diferença significativa dos demais tempos. Entretanto, aos 60 e 120 dias de tratamento não se verificaram diferenças significativas do percentual de linfócitos vivos em relação aos valores basais.

O grupo controle apresentou, aos 60 dias, diferença significativa do percentual de linfócitos vivos em relação aos valores basais. Aos 120 dias o percentual de linfócitos vivos apresentou aumento significativo em relação aos valores basais, mas não em relação aos 60 dias. Aos 180 dias o percentual de linfócitos vivos apresentou aumento significativo em relação aos valores basais, contudo, não houve significância em relação aos 60 e 120 dias de tratamento no grupo controle.

A análise de variância multivariada de medidas repetidas caracterizou diferença significativa no percentual de linfócitos vivos entre os tratamentos ao longo do tempo ( $p=0.0472$ ) (Figura 11).



**Figura 11.** Linfócitos vivos em percentual (%) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.0002$

Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.0472$

Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

### 5.6 Percentual de linfócitos em apoptose

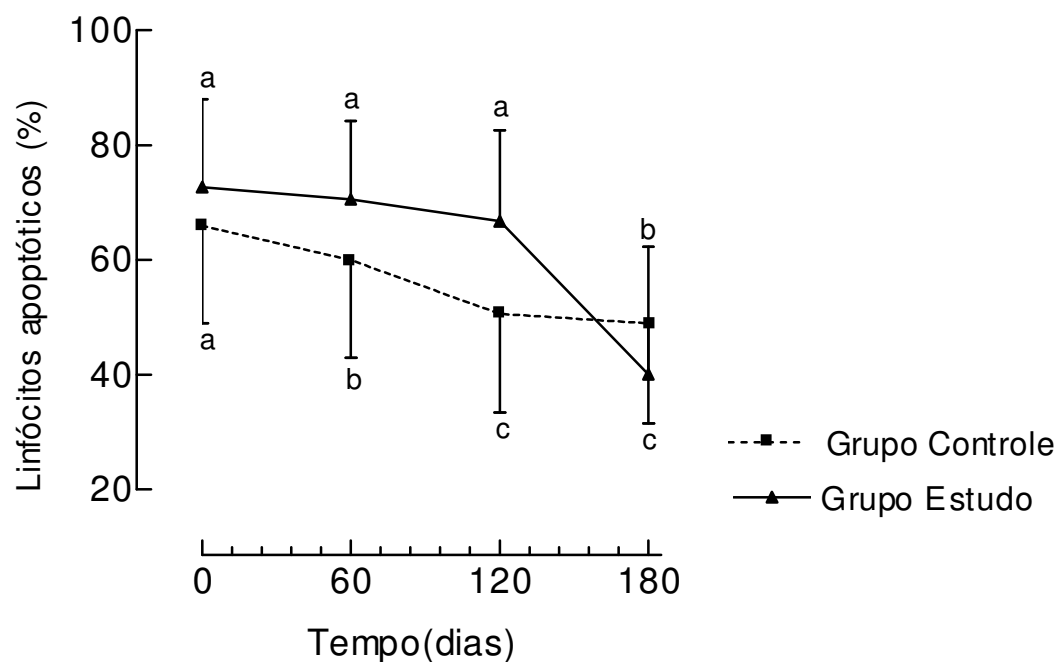
O percentual de linfócitos em apoptose apresentou diminuição significativa em consequência do tempo de tratamento, nos dois grupos estudados ( $p=0.0003$ ).

O grupo estudo apresentou, aos 180 dias de tratamento diferença significativa dos demais tempos. Entretanto, aos 60 e 120 dias de tratamento não se verificaram diferenças significativas do percentual de linfócitos apoptóticos em relação aos valores basais.

O grupo controle, apresentou diferença significativa aos 60 dias de tratamento em relação aos valores basais. Aos 120 dias de tratamento, verificou-se diminuição significativa da média em relação à média basal e aquela verificada aos 60 dias de tratamento. Entretanto, não se verificou diminuição significativa da média do percentual de linfócitos em apoptose entre 120 e 180 dias de tratamento.

A análise de variância caracterizou diferença significativa no percentual de linfócitos apoptóticos entre os tratamentos ao longo do tempo ( $p=0.0321$ ) (Figura 12).





**Figura 12.** Linfócitos apoptóticos em percentual (%) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.0003$

Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.0321$

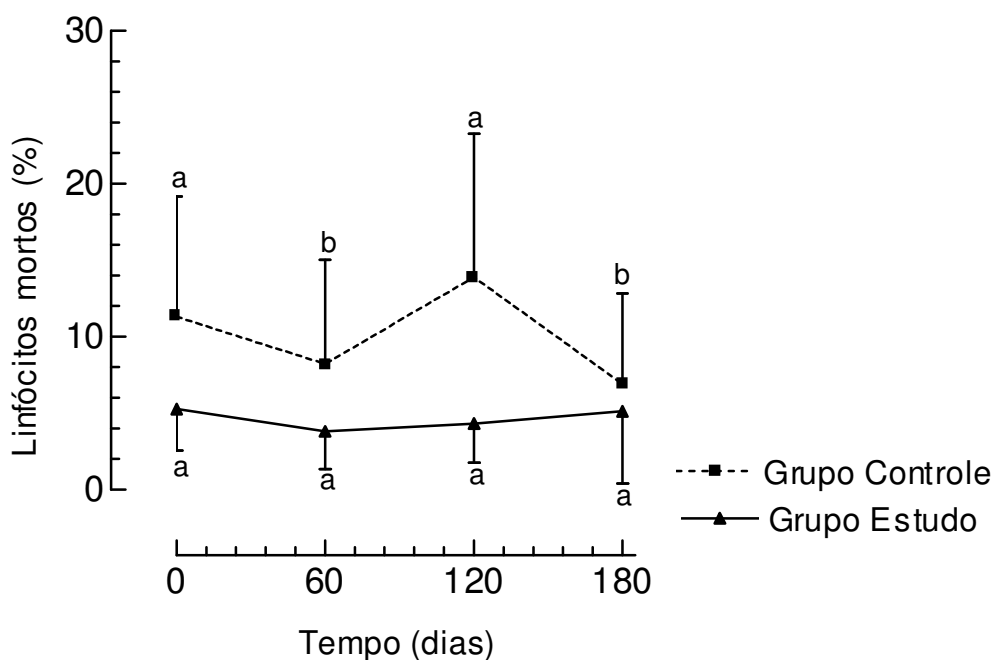
Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

### 5.7 Percentual de linfócitos mortos

As médias de linfócitos mortos apresentaram diferença significativa em consequência do tempo de tratamento ( $p=0.0286$ ).

O grupo de estudo aos 60, 120 e 180 dias de tratamento não apresentou alterações significativas, contudo o grupo controle apresentou flutuações significativas na média de linfócitos mortos.

Quanto analisadas a interação entre os fatores tempo e tratamentos a que os dois grupos foram submetidos não houve diferença significativa ( $p=0.0728$ ) (Figura 13).



**Figura 13.** Linfócitos mortos em percentual (%) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.0286$

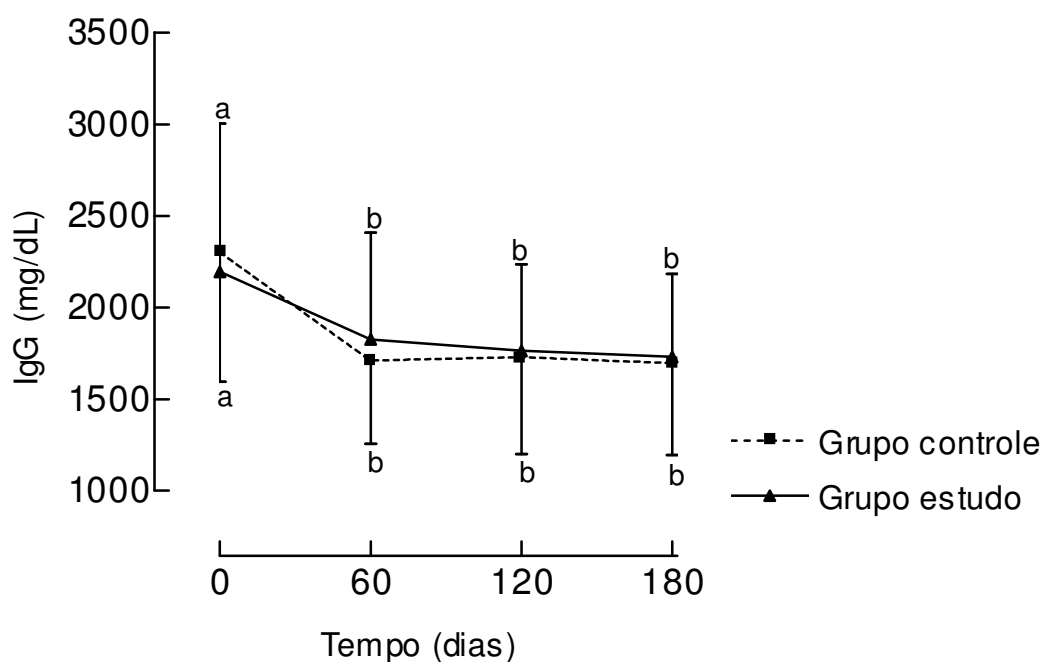
Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.0728$

Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

### 5.8 Níveis séricos de IgG, IgM e IgA

Os níveis séricos de IgG, IgM e IgA apresentaram diminuição significativa em consequência do tempo de tratamento ( $p=0.0003$ ;  $p=0.0006$ ;  $p=0.0021$ ) (Figuras 14, 15 e 16).

Nos dois grupos avaliados, aos 60 dias de tratamento os níveis séricos de IgG e IgM diferiram significativamente dos níveis basais, contudo, aos 120 e 180 dias não se verificaram diferenças significativas em relação aos 60 dias de tratamento (Figuras 14 e 15).

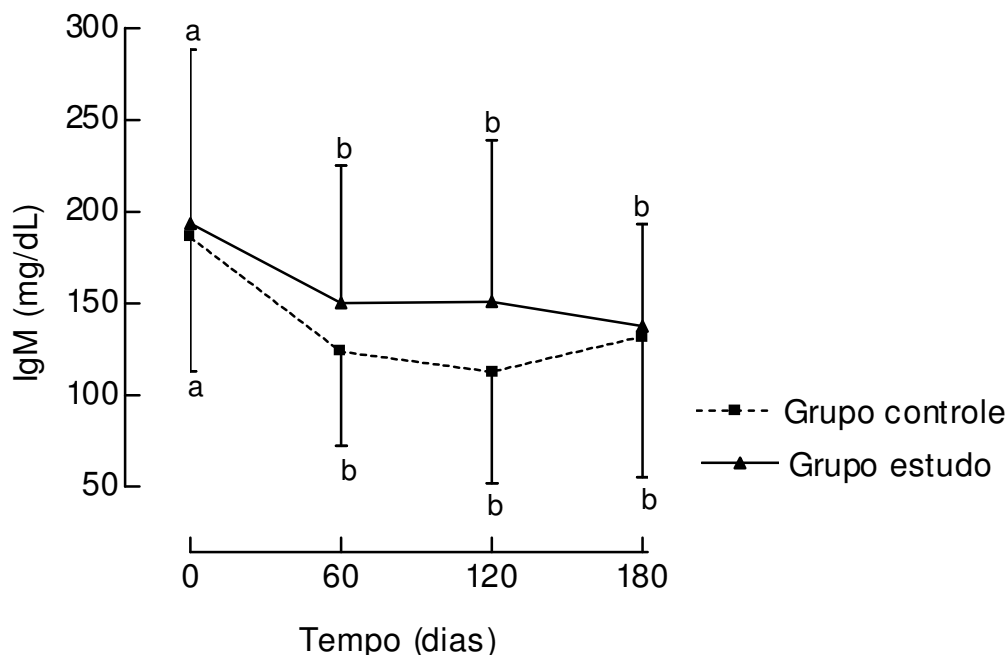


**Figura 14.** Níveis séricos de IgG (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.0003$

Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.6171$

Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .



**Figura 15.** Níveis séricos de IgM (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.0006$

Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.5466$

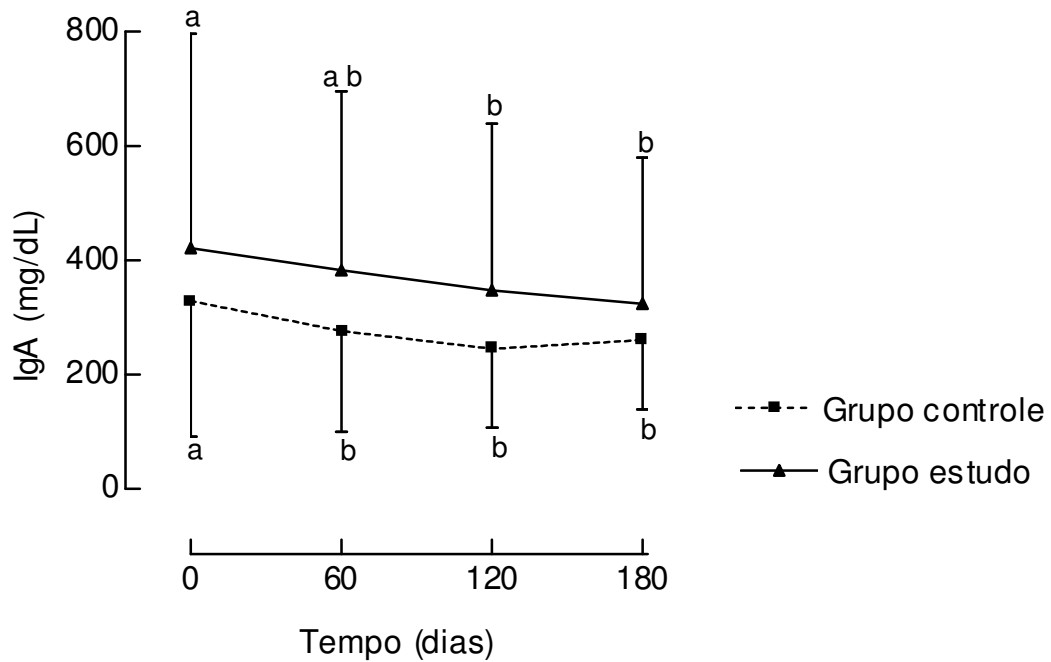
Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

Os níveis séricos de IgA no grupo controle diferiram significativamente aos 60, 120 e 180 dias em relação aos níveis basais, não havendo contudo, diferença significativa entre esses tempos de tratamento (Figura 16).

No grupo estudo aos 60 dias de tratamento verificaram-se níveis séricos de IgA menores que os níveis basais, sem contudo haver significância estatística. Aos 120 e 180 dias de tratamento, os níveis séricos de IgA foram significativamente menores que os níveis basais, mas não apresentaram diferença significativa dos níveis observados aos 60 dias de tratamento (Figura 16).

A análise de variância não caracterizou diferenças significativas nos níveis de IgG e IgM entre os tratamentos ao longo do tempo (respectivamente,

$p=0.6171$ ;  $p=0.5466$ ). Já para os níveis séricos de IgA verificou-se diferença entre os tratamentos ao longo do tempo ( $p=0.0265$ ) (Figura 16).



**Figura 16.** Níveis séricos de IgA (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.0021$

Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.0265$

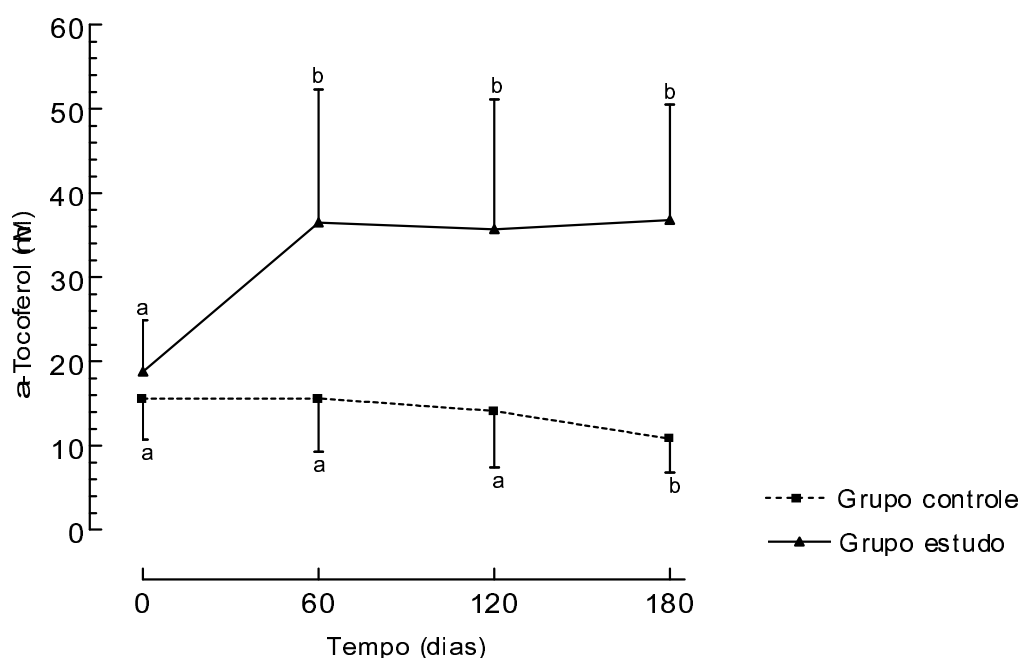
Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

### 5.9 Níveis séricos de Alfa-tocoferol

Os níveis séricos de alfa-tocoferol apresentaram diferenças significativas ao longo do tempo de tratamento ( $p=0.0097$ ), assim como entre os tratamentos avaliados ao longo do tempo ( $p=0.0002$ ).

O grupo de estudo manteve níveis séricos significativamente maiores a partir dos 60 dias de tratamento quando comparados com os valores basais (Figura 18).

O grupo controle apresentou, diferença significativa aos 180 dias de tratamento quando comparado aos demais tempos. Entretanto, não se verificou diferença significativa entre os valores basais e os observados aos 60 e 120 dias de tratamento (Figura 18).



**Figura 18.** Níveis séricos de alfa-tocoferol ( $\mu\text{M}$ ) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

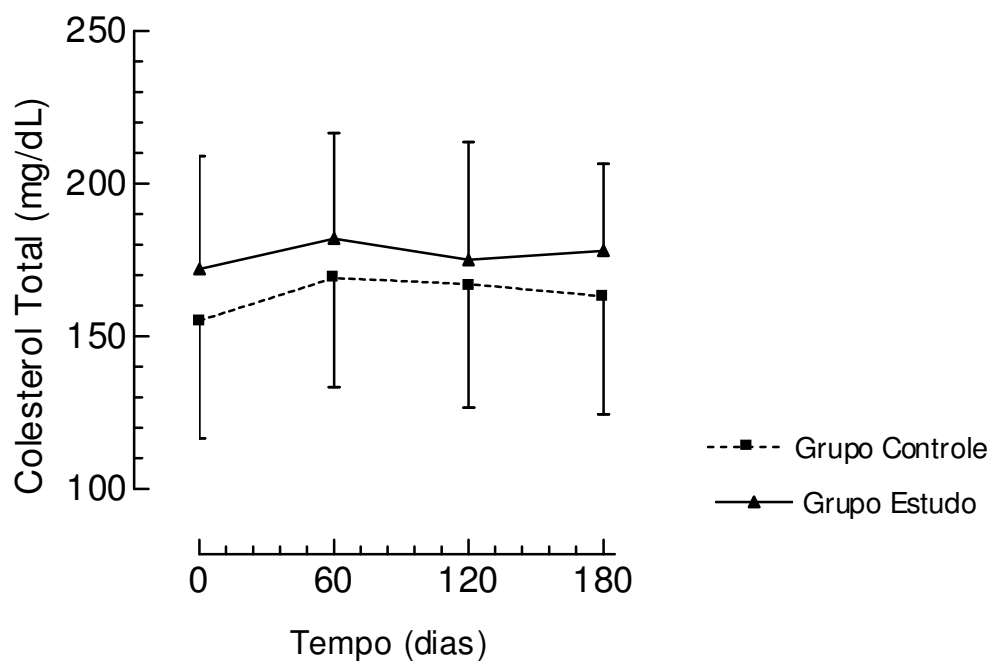
Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.0097$

Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.0002$

Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

### 5.10 Níveis séricos de colesterol total

As determinações de colesterol total aos 60, 120 e 180 dias de tratamento anti-retroviral não apresentaram alterações significativas, quando comparados com os níveis basais nos dois grupos estudados ( $p=0.1461$ ), assim como, não caracterizaram diferenças significativas na interação entre os fatores tempo e tratamentos ( $p=0.5796$ ) a que os dois grupos foram submetidos (Figura 19).



**Figura 19.** Níveis séricos de colesterol total (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.1461$

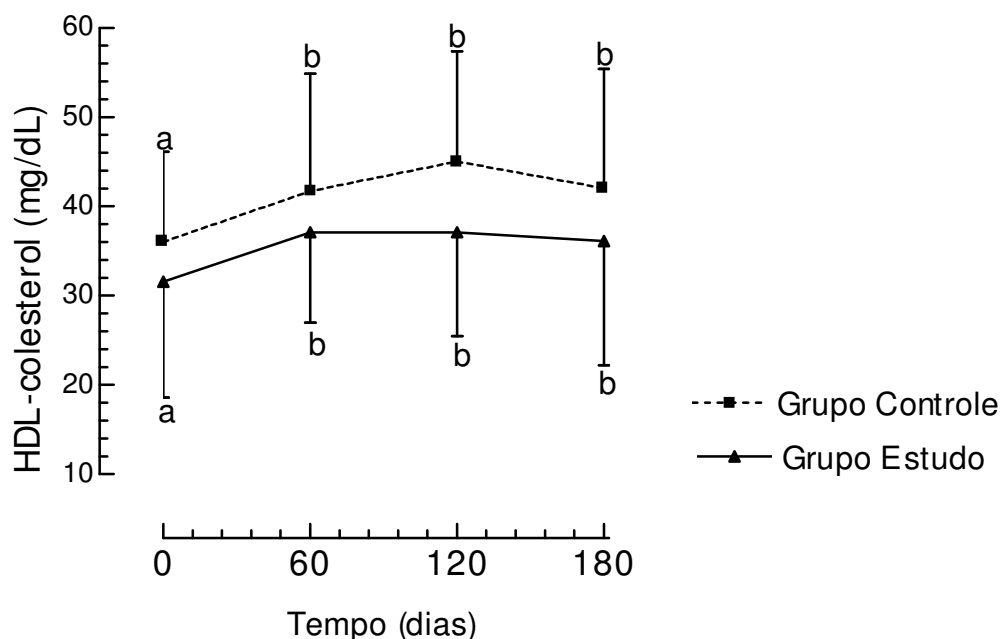
Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.5796$

### 5.11 Níveis séricos de HDL-colesterol

Os níveis séricos de HDL-colesterol apresentaram diferença significativa ao longo do tempo de tratamento nos dois grupos estudados ( $p=0.0026$ ).

Os pacientes dos dois grupos apresentaram, aos 60 dias de tratamento, aumento significativo nos níveis de HDL-colesterol em relação às respectivas médias basais. Aos 120 e 180 dias de tratamento não se verificou alteração significativa nos níveis de HDL-colesterol em relação às médias verificadas aos 60 dias de tratamento (Figura 20).

A análise de variância multivariada de medidas repetidas não caracterizou diferença significativa entre os fatores tempo e tratamentos ( $p=0.7539$ ) (Figura 20).



**Figura 20.** Níveis séricos de HDL-colesterol (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.0026$

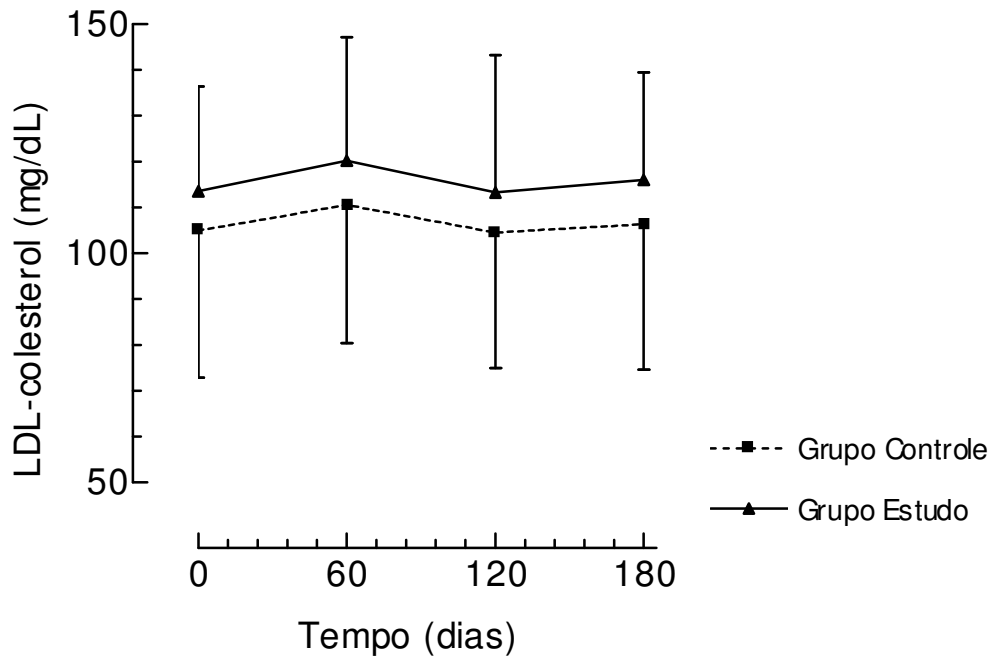
Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.7539$

Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .



### 5.12 Níveis séricos de LDL-colesterol

As determinações de LDL-colesterol aos 60, 120 e 180 dias de tratamento não apresentaram alterações significativas, quando comparados com os níveis basais nos dois grupos estudados ( $p=0.3836$ ), assim como, não caracterizaram diferenças significativas entre os tratamentos ao longo do tempo ( $p=0.9984$ ) (Figura 21).



**Figura 21.** Níveis séricos de LDL-colesterol (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

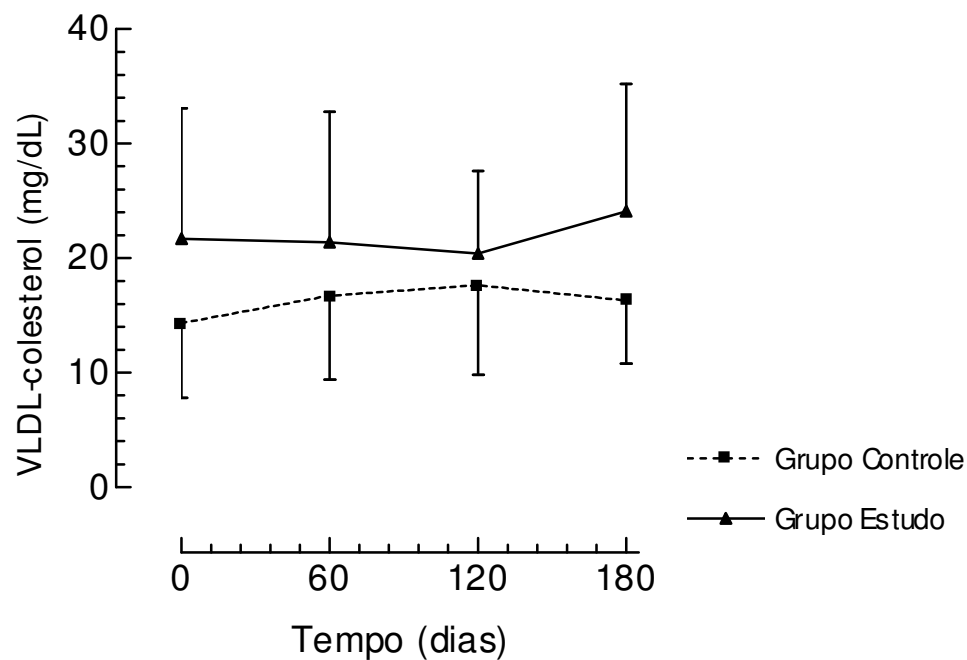
Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.3836$

Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.9984$

Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

### 5.13 Níveis séricos de VLDL-colesterol

Os níveis séricos de VLDL-colesterol não apresentaram diferenças significativas ao longo do tempo de tratamento ( $p= 0.6277$ ), assim como não houve diferença significativa entre os tratamentos ao longo do tempo ( $p=0.2485$ ) (Figura 22).



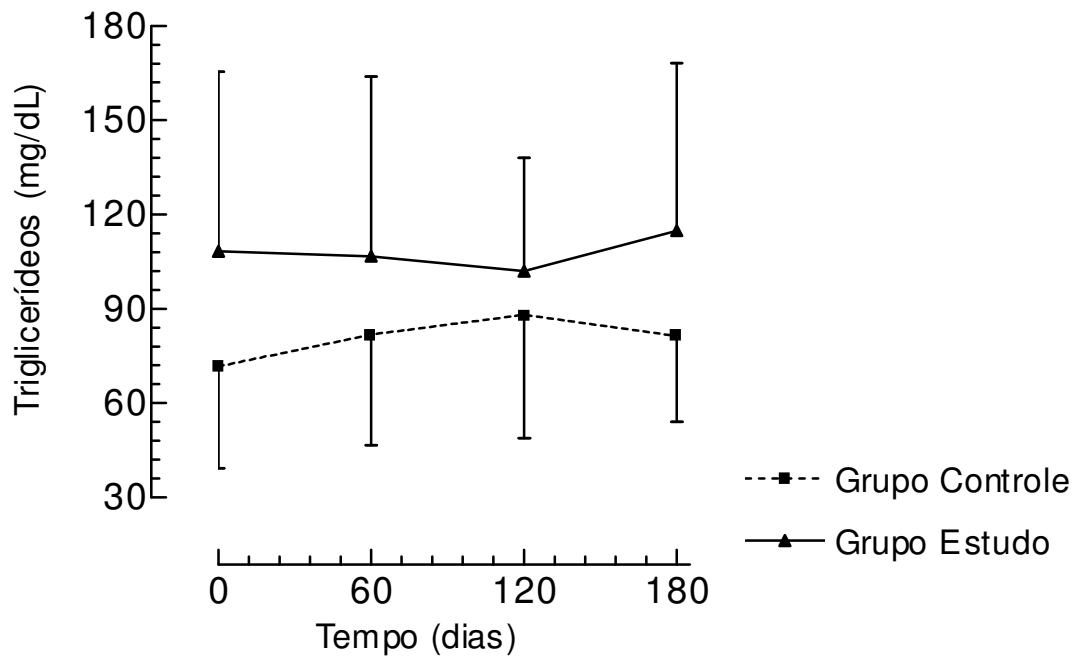
**Figura 22.** Níveis séricos de VLDL-colesterol (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.6277$

Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.2485$

### 5.14 Níveis séricos de Triglicerídeos

Os níveis séricos de triglicerídeos não apresentaram diferenças significativas ao longo do tempo de tratamento ( $p= 0.7438$ ), assim como não houve diferença significativa entre os tratamentos ao longo do tempo ( $p=0.4773$ ) (Figura 23).



**Figura 23.** Níveis séricos de Triglicerídeos (mg/dL) nos tempos 0, 60, 120 e 180 dias, nos grupos controle e estudo.

Efeito do Fator Tempo:  $p = 0.7488$

Interação entre os Fatores Tempo e tratamentos:  $p = 0.4773$

## 6. DISCUSSÃO

O objetivo principal do tratamento de pacientes soropositivos para o HIV-1 é a reconstituição do sistema imunológico, o que exige fundamentalmente uma efetiva inibição da replicação viral e o restabelecimento numérico e funcional dos linfócitos T CD4<sup>+</sup>.

Neste contexto, o estado nutricional e os níveis séricos de micronutrientes essenciais, como a vitamina E, tem sido apontados como cofatores importantes no curso da infecção pelo HIV-1 (MONTEIRO *et al.*, 1999).

TANG e colaboradores (1997), estudando a associação entre níveis séricos de vitamina A, vitamina E e ritmo de progressão da infecção pelo HIV-1, observaram que pacientes com níveis séricos superiores a 23,5µM de alfa-tocoferol, tem menor risco de progressão para AIDS e menor mortalidade. Os pesquisadores observaram ainda, que os níveis séricos de alfa-tocoferol nesses pacientes, eram mantidos pelo uso de suplementação vitamínica.

Em indivíduos saudáveis os níveis séricos médios de alfa-tocoferol variam de 21 a 27µM dependendo do local de estudo e dieta a que os indivíduos estão expostos (SCHWEDHELM *et al.*, 2003).

No presente estudo, verificamos que os pacientes soropositivos para o HIV-1 apresentam concentrações séricas diminuídas de alfa-tocoferol e que a suplementação com 800 mg/dia de vitamina E foi capaz de recompor os níveis séricos desse micronutriente nos pacientes sob terapia anti-retroviral (figura 18). As concentrações séricas de alfa-tocoferol foram mantidas em níveis superiores a 35µM a partir de 60 dias de suplementação, o que representa um aumento significativo ( $p < 0.05$ ) quando comparado aos níveis basais ou ao grupo controle.

Nossos resultados corroboram os resultados obtidos por MONTEIRO e colaboradores (1999), no Brasil, que estudando pacientes soropositivos para o HIV-1, verificaram concentrações séricas diminuídas de alfa-tocoferol, abaixo de 18µM em 41,3% dos pacientes estudados, e concentrações médias de 17,8µM e 19,8µM dependendo do estado nutricional geral dos pacientes. Contudo, MONTEIRO e colaboradores não avaliaram o efeito da suplementação com

## 7. CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo permitem concluir que:

- 1) Os pacientes infectados com o HIV-1 apresentam deficiência de alfa-tocoferol quando do início da terapia anti-retroviral, e essa deficiência é prontamente corrigida pela suplementação com 800mg/dia de vitamina E via oral;
- 2) O tratamento anti-retroviral efetivamente inibiu a replicação viral, e a diminuição dos níveis plasmáticos de RNA do HIV-1 foi acompanhada do aumento do número de linfócitos CD4<sup>+</sup>, da relação CD4/CD8, da viabilidade de linfócitos e dos níveis séricos de IgA e IgG, no início da terapia;
- 3) O aumento dos níveis séricos de alfa-tocoferol é acompanhado do aumento de linfócitos viáveis e diminuição dos índices de apoptose, independente da terapia anti-retroviral;
- 4) As determinações dos índices de viabilidade celulares em linfócitos circulantes são, em associação com níveis plasmáticos de RNA do HIV-1 e número de linfócitos CD4<sup>+</sup>, parâmetros importantes na avaliação terapêutica e progressão da infecção pelo HIV-1;

**8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ALLARD, J.P., AGHDASSI, E., CHAU, J., TAM, C., KOVACS, C.M., SALIT, I.E., WALMSLEY, S.L. Effects of vitamin E and C supplementation on oxidative stress and viral load in HIV-infected subjects. **AIDS**, v.12, n.13, p.1653-1659, 1998.
- ALLARD, J.P., AGHDASSI, E., CHAU, J., SALIT, I., WALMSLEY, S. Oxidative stress and plasma antioxidant micronutrients in humans with HIV infection. **Am. J. Clin. Nutr.** v.67, n.1, p.143-147, 1998.
- AUKRUST, P., MULLER, F., FROLAND, S.S. Elevated serum levels of IL-4 and IL-6 in patients with common variable immunodeficiency (CVI) are associated with chronic immune activation and low numbers of CD4+ lymphocytes. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, v.70, n.3, p.217-224, 1994.
- BACHORIK, P.S., RIFKIND, B.M., KWITEROVICH, P.O. Lipids and Dyslipoproteinemia. In: HENRY, J.B. ed. **Clinical diagnosis and management by laboratory methods**. New York: W.B. Saunders Company, 1996. p. 226-227.
- BADLEY, A.D., MCELHINNY, J.A., LEIBSON, P.J., LYNCH, D.H., ALDERSON, M.R., PAYA, C.V. Up regulation of Fas ligand expression by human immunodeficiency virus in human macrophages mediates apoptosis of uninfected T lymphocytes. **J. Virol.**, v.70, n.1, p.199-206, 1996.
- BAEUERLE, P.A., HENKEL, T. Function and Activation of NF- $\kappa$ B in the immune system. **Annu. Rev. Immunol.**, n.12, p.141-149, 1994.
- BARRE-SINOSSI, F., CHERMANN, J.C., REY, F., NUGEYRE, M.T., CHAMARET, S., GRUEST, J., DAUGUET, C., AXLER-BLIN, C., VEZINET-BRUN, F., ROUZIOUX, C., ROZENBAUM, W., MONTAGNIER, L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, v.220, n.4599, p.868-871, 1983.
- BARROSO MP, GÓMEZ-DÍAZ C, LÓPEZ-LLUCH G, MALAGÓN MM, CRANE FL, NAVAS P. Ascorbate and alpha-tocopherol prevent apoptosis induced by serum removal independent of bcl-2. **Arch. Bioch. Bioph.**, v.343, n.2, p.243-248, 1997.
- BECKMAN INSTRUMENTS INCORPORATION. Immunoglobulin A. Brea. p.11, 1996. Manual Técnico.
- BECKMAN INSTRUMENTS INCORPORATION. Immunoglobulin G. Brea. p.11, 1996a. Manual Técnico.
- BECKMAN INSTRUMENTS INCORPORATION. Immunoglobulin M. Brea. p.11, 1996b. Manual Técnico.
- BLATTNER, W.A. HIV epidemiology: past, present, and future. **FASEB J.**, v.5, n.10, p.2340-2348, 1991.
- BRASIL.Ministério da Saúde.Coordenação Nacional de DST/AIDS.

Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV-2000. Brasília, 2000.

BRASIL.Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de DST/AIDS. Boletim Epidemiológico – Aids, Ano XIV, Nº2, Semanas Epidemiológica, 14/2001 à 26/2001. Brasília, 2001.

BUCY RP, HOCKETT RD, DERDEYN CA, SAAG MS, SQUIRES K, SILLERS M, MITSUYASU RT, KILBY JM. Initial increase in blood CD4+ lymphocytes after HIV anti-retroviral therapy reflects redistribution from lymphoid tissues. **J. Clin. Invest.**, v.103, n.10, p.1391-1398, 1999.

CASELLA, C.R., RAPAPORT, E.L., FINKEL, T.H. Vpu increases susceptibility of human immunodeficiency virus type 1-infected cells to fas killing. **J. Virol.**, v.73, n.1, p.92-100, 1999.

CDC. CENTER FOR DISEASE CONTROL. Guidelines for national human immunodeficiency virus case surveillance, including monitoring for human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v.48, n.RR-13, p.1-31, 1999.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v.41, n.RR-17, p.1-19, 1992.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Epidemiologic notes and reports immunodeficiency among female sexual partners of males with acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v.31, n. 52, p.697-698, 1983.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Epidemiologic notes and reports Pneumocystis carinii pneumonia among persons with hemophilia A. **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v.31, n. 27, p.365-367, 1982a.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Epidemiologic notes and reports possible transfusion-associated acquired immune deficiency syndrome (AIDS) - California. **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v.31, n. 48, p.652-654, 1982b.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Epidemiologic notes and reports update on Kaposi's sarcoma and opportunistic infections in previously healthy persons -- United States. **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v.31, n. 22, p.294-301, 1982.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Kaposi's Sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men -- New York. **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v.30, n. 25, p.305-308, 1981b.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Pneumocystis pneumonia - Los Angeles. **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v.3, n.21, p.1-3, 1981a.

- CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Unexplained immunodeficiency and opportunistic infections in infants – New York, New Jersey, California. **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v.31, n.49, p.665-667, 1982c.
- CHANDRA, J., SAMALI, A., ORRENIUS, S. Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress. **Free Radic. Biol. Med.**, v.29, n.3/4, p.323-33, 2000.
- CHAVAN SJ, TAMMA SL, KAPLAN M, GERSTEN M, PAHWA SG. Reduction in T Cell Apoptosis in Patients with HIV disease Following Anti-retroviral Therapy. **Clin. Immunol.**, v.93, n.1, p.24-33, 1999.
- CLAVEL, F., BRUN-VEZINET, F., GUETARD, D., CHAMARET, S., LAURENT, A., ROUZIOUX, C., REY, M., KATLAMA, C., REY, F., CHAMPELINAUD, J.L. LAV type II: a second retrovirus associated with AIDS in West Africa. **C. R. Acad. Sci. III.**, v.302, n.13, p.485-488, 1986.
- COFFIN, J., HAASE, A., LEVY, J.A., MONTAGNIER, L., OROSZLAN, S., TEICH, N., TEMIN, H., TOYOSHIMA, K., VARMUS, H., VOGT, P. et al. What to call the AIDS virus? **Nature**, v.321, n.6065, p.10, 1986.
- DE MILITO, A., MORCH, C., SÖNNERBORG, A., CHIODI, F. Loss of (CD27) B lymphocytes in HIV-1 infection. **AIDS**, n.15, p.957-964, 2001.
- DESROSIERS, R.C. HIV with multiple gene deletions as a live attenuated vaccine for AIDS. **AIDS Res Hum Retroviruses**, v.8, n.3, p.411-421, 1992.
- DHALIA, C. A Aids no Brasil: Situação atual e tendências. In: Boletim Epidemiológico – Aids, Ano XIII, Nº1, **Semana Epidemiológica**, 48/1999 a 22/2000. Brasília, 2000.
- DIAGNOSTIC PRODUCTS INCORPORATION. Beta-2 Microglobulin. Los Angeles. p.4, 2000d. Manual Técnico.
- DOBMEYER, T.S., FINDHAMMER, S., DOBMEYER, J.M., KLEIN, S.A., RAFFEL, B., HOELZER, D., HELM, E.B., KABELITZ, D., ROSSOL, R. Ex vivo induction of apoptosis in lymphocytes is mediated by oxidative stress: role for lymphocyte loss in HIV infection. **Free Radic Biol Med.**, v.22, n.5, p.775-785, 1997.
- DRAGIC, T., LITWIN, V., ALLAWAY, G.P., MARTIN, S.R, HUANG, Y., NAGASHIMA, K.A., CAYANAN, C., MADDON, P.J., KOUP, R.A, MOORE, J.P., PAXTON, W.A. HIV-1 entry into CD4+ cell is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. **Nature**, v.381, n.6584, p.667-673, 1996.
- EICHHORST, S.T., MULLER, M., LI-WEBER, M., SCHULZE-BERGMEN, H., ANGEL, P., KRAMMER, P.H. A novel AP-1 element in the CD95 ligand promoter is required for induction of apoptosis in hepatocellular carcinoma cells upon treatment with anticancer drugs. **Mol. Cell. Biol.**, v.20, n.20, p.7826-7837, 2000.
- ERBELDING, E.J., QUINN, T.C. The clinical utility of viral load monitoring in HIV



- infection: strengths and limitations. **Genitourin. Med.**, v.72, n.6, p.393-395, 1996
- ESPINOZA, L. R., AGUILAR, J. L., ESPINOZA, C. G., et al. HIV associated arthropathy: HIV antigen demonstration in the synovial membrane. **J. Rheumatol.**, v.17, p.1195-1201, 1990.
- FAUCI, A.S., PANTALEO, G., STANLEY, S., WEISSMAN, D. Immunopathogenic mechanisms of HIV infection. **Ann. Intern. Med.**, v.124, n.7, p.654-663, 1996.
- FAUCI, A.S. The Aids epidemic: Consideration for the 21st century. **N. Engl. J. Med.**, v.341, p.1046-1050, 1999.
- FEDRIZZI, E.N. AIDS na mulher-I: Aspectos gerais, epidemiologia e patogenia. **Femina-Revista da Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia**, v.24, p.614-616, 1992.
- FOLEY, BT. An overview of the molecular phylogeny of lentiviruses. Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, 2000.
- FRIEDEWALD, W.T., LEVY, R.I., FREDERIKSON, D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin. Chem.**, v.18, n.6, p.499-502, 1972.
- GALLO, R.C., SARIN, P.S., GELMANN, E.P., ROBERT-GUROFF, M., RICHARDSON, E., KALYANARAMAN, V.S., MANN, D., SIDHU, G.D., STAHL, R.E., ZOLLA-PAZNER, S., LEIBOWITCH, J., POPOVIC, M. Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, v.220, n.4599, p.865-867, 1983.
- GOGU, S.R., BECKMAN, B.S., RANGAN, S.R., AGRAWAL, K.C. Increased therapeutic efficacy of zidovudine in combination with vitamin E. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.165, n.1, p401-407, 1989.
- GOLDSBY, R.A., KINDT, T.J., OSBORNE, B.A. **Kuby Immunology**. New York: W. H. Freeman, 2000. 670p.
- GOUGEON, M.L., MONTAGNIER, L., Programmed Cell Death as a Mechanism of CD4 and CD8 T Cell Deletion in AIDS: Molecular Control and effect of Highly Active Anti-retroviral Therapy. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v.887, p.199-212, 1999.
- GRIFFITH, T.S., BRUNNER, T., FLETCHER, S.M., GREEN, D.R., FERGUSON, T.A. Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. **Science**, v.270, n.5239, p.1189-1192, 1995.
- GRIMBLE, R.F., Modification of inflammatory aspects of immune modulation by nutrients. **Nutrition Research**, v.18, n.7, p.1297-1317, 1998.
- HENGARTNER, M.O. The biochemistry of apoptosis. **Nature**, v.407, p.770-776, 2000.

- HERNDIER, B.G., KAPLAN, L.D., McGRATH, M.S., Pathogenesis of AIDS lymphomas. **AIDS**, v.8, p.1025-1049, 1994.
- HORUK, R. Chemokine receptor and HIV-1: the fusion of two major research fields. **Immunol. Today**, v.20, n.2, p.89-94, 1999.
- HOWARD, S. Cytokine and Cell Adhesion Molecules. In: Davey, F.R., Nakamura, R.M., Pincus, M.R., Woods, G.L., eds. **Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods**. New York: J.B. Henry, p. 947-957, 1996.
- HU, D.J., DONDERO, T.J., RAYFIELD, M.A., GEORGE, J.R., SCHOCHETMAN, G., JAFFE, H.W., LUO, C.C., KALISH, M.L., WENIGER, B.G., PAU, C.P., SCHABLE, C.A., CURRAN, J.W. The emerging genetic diversity of HIV. The importance of global surveillance for diagnostics, research, and prevention. **JAMA**, v.275, n.3, p.210-6, 1996.
- HUGHES, M.D., JOHNSON, V.A., HIRSCH, M.S., BREMER, J.W., ELBEIK, T., ERICE, A., KURITZKES, D.R., SCOTT, W.A., SPECTOR, S.A., BASGOZ, N., FISCHL, M.A., D' AQUILA, R.T. Monitoring plasma HIV RNA levels in addition to CD4+ lymphocyte count improves assessment of antiretroviral therapeutic response. ACTG 241 Protocol Virology Substudy Team. **Ann. Intern. Med.**, v.126, n.12, p.929-938, 1997.
- ISRAEL, N., GOUGEROT-POCIDALO, M.A. Oxidative stress in human immunodeficiency virus infection. **Cell. Mol. Life Sci.**, v.53, n.11/12, p.864-870, 1997.
- JACOBSEN, M.D., WEIL, M., RAFF, M.C. Role of Ced-3/ICE-family proteases in staurosporine-induced programmed cell death. **J.Cell. Biol.**, v.133, p.1041-1051, 1996.
- JACOBSON, M. A., KHAYAM-BASHI, H., MARTIN, J.N., BLACK, D., NG, V. Effect of long-term highly active antiretroviral therapy in restoring HIV-induced abnormal B-lymphocyte function. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v.31, p.472-477, 2002.
- JARUGA, P., JARUGA, B., GACKOWSKI, D., OLCZAK, A., HALOTA, W., PAWLOWSKA, M., OLINSKI, R. Supplementation with antioxidant vitamins prevents oxidative modification of DNA in lymphocytes of HIV-infected patients. **Free Radic. Biol. Med.**, v.32, n.5, p.414-420, 2002.
- JOHNSON, N., PARKIN, J.M. Anti-retroviral therapy reverses HIV-associated abnormalities in lymphocyte apoptosis. **Clin. Exp. Immunol.**, v.113, n.2, p.229-234, 1998.
- KIENY, M.P. Structure and regulation of the human AIDS virus. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v.3, n.4, p.395-402, 1990.
- KRAMER, P.H. CD95's deadly mission in the immune system. **Nature**, v.407, p.789-795, 2000.

- KUIKEN, C., THAKALLAPALLI, R., ESKLID, A., DE RONDE, A. Genetic analysis reveals epidemiologic patterns in the spread of human immunodeficiency virus. **Am. J. Epidemiol.**, v.152, n.9, p.814-822, 2000.
- LEVY, JA .Infection by human immunodeficiency virus, CD4 is not enough. **N. Engl. J. Med.**, v.335, p.1528-1530, 1996.
- LI, Q., VERMA, I.M. NF- $\kappa$ B regulation in the immune system. **Nature Reviews Immunol.**, v.2, p.725-734, 2002.
- LI-WEBER, M., LAUR, O., DERN, K., KRAMMER, P.H. T cell activation-induced and HIV Tat-enhanced CD95 (APO-1/Fas) ligand transcription involves NF-Kappa B. **Eur. J. Immunol.**, v.30, p.661-670, 2000.
- LI-WEBER, M., WEIGAND, M.A., GIAISI, M., SUSS, D., TREIBER, M.K., BAUMANN, S., RITSOU, E., BREITKREUTZ, R., KRAMMER, P.H. Vitamin E inhibits CD95 ligand expression and protects T cells from activation-induced cell death. **J. Clin. Invest.**, v.110, n.5, p.681-690, 2002.
- LOOK, M.P., ROCKSTROH, J.K., RAO, G.S., BARTON, S., LEMOCH, H., KAISER, R., KUPFER, B., SUDHOP, T., SPENGLER, U., SAUERBRUCH, T. Sodium selenite and N-acetylcysteine in antiretroviral-naive HIV-1-infected patients: a randomized, controlled pilot study. **Eur. J. Clin. Invest.**, v.28, n.5, p.389-397, 1998.
- McDERMOTT, D.H., ZIMMERMAN, P.A., GUIGNARD, F., KLEEBERGER, C.A., LEITMAN, S.F., MURPHY, P.M. CCR5 promoter polymorphism and HIV-1 disease progression. Multicenter AIDS Cohort Study (MACS). **Lancet**, v.352, n.9131, p.866-870, 1998.
- MEYDANI, S.N., MEYDANI, M., BLUMBERG, J.B., LEKA, L.S., PEDROSA, M., DIAMOND, R., SCHAEFER, E.J. Assessment of the safety of supplementation with different amounts of vitamin E in healthy older adults. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.68, n.2, p.311-318, 1998.
- MOLECULAR PROBES INCORPORATION. Live/Dead Viability/Cytotoxicity Kit (L-3224). Eugene, 1999. 6p. Manual Técnico.
- MONTELLA, F., PEZZOTTI, P., DI SORA, F., RECCHIA, O., LAURIA, F., REZZA, G. Improving the prognostic value of CD4+ count using IgA and clinical signs in HIV-seropositive i.v. drug users. **Infection**, v.25, n.2, p.117-120, 1997.
- MÜLLER, F., AUKRUST, P., FROLAND, S.S. Possible Role of Interleukin-10 (IL-10) and CD40 Ligand Expression in the Pathogenesis of hypergammaglobulinemia in Human Immunodeficiency Virus Infection: Modulation of IL-10 and Ig Production After Intravenous Ig Infusion. **Blood**, v.92, n.10, p.3721-3729, 1998.
- MURDOCH, C., FINN, A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infections disease. **Blood**, v.95, p.3032-3043, 2000.

- NAGASE, H., AGEMATSU, K., KITANO, K., TAKAMOTO, M., OKUBO, Y., KOMIYAMA, A., SUGANE, K. Mechanism of hypergammaglobulinemia by HIV infection: circulating memory B-cell reduction with plasmacytosis. **Clin. Immunol.**, v.100, n.2, p.250-259, 2001.
- NOTERMANS, D.W., DE JONG, J.J., GOUDSMIT, J., BAKKER, M., ROOS, M.T., NIJHOLT, L., CREMERS, J., HELLINGS, J.A., DANNER, S.A., DE RONDE, A. Potent antiretroviral therapy initiates normalization of hypergammaglobulinemia and a decline in HIV type 1-specific antibody responses. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v.17, n.11, p.1003-1008, 2001.
- OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Centro de Colaborador da OMS para classificação de doenças em português. CID-10 classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde. 3.ed. São Paulo: EDUSP, 1998. 999p.
- OTT, M., LOVETT, J.L., MULLER, L., VERDIN, E. Superinduction of IL-8 in T cells by HIV-1 Tat protein is mediated through NF-KappaB factors. **J. Immunol.**, v.160, n.6, p.2872-2880, 1998.
- PAKKER NG, NOTERMANS DW, DE BOER RJ, ROOS MT, DE WOLF F, HILL A, LEONARD JM, DANNER SA, MIEDEMA F, SCHELLEKENS PT. Biphasic kinetics of peripheral blood T cells after triple combination therapy in HIV-1 infection: a composite of redistribution and proliferation. **Nat Med.**, v.4, n.2, p.208-214, 1998.
- PEACE, G.W., LEAF, C.D., The rise of oxidative stress in HIV disease. **Free Radic. Biol. Med.**, v.19, p.523-528, 1995.
- PIETTE, J., LEGRAND-POELS, S. HIV-1 reactivation after an oxidative stress mediated by different reactive oxygen species. **Chem. Biol. Interact.**, v.91, n.2-3, p.79-89, 1994.
- PITRAK DL, BOLAÑOS J, HERSHOW R, NOVAK RM. Discordant CD4 T Lymphocyte responses to anti-retroviral therapy for HIV infection are associated with ex-vivo rates of apoptosis. **AIDS**, v.15, n.10, p.1317-1319, 2001.
- POLI, G., PANTALEO, G., FAUCI, A. S. Immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. **Clin. Infect. Dis.**, v.17, supl. 1, p.224-229, 1993.
- POLIDORI, M.C., STAHL, W., EICHLER, O., NIESTROJ, I., SIES, H. Profiles of antioxidants in human plasma. **Free Radic. Biol. Med.**, v.30, n.5, p.456-62, 2001.
- QUINN, T.C., Acute primary HIV infection. **JAMA**, v.278, p.58-62, 1997.
- QUINN, TC. Global burden of the AIDS pandemic. **Lancet**, v.348, p.99-106, 1996.
- RADRIZZANI, M., ACCORNERO, P., DELIA, D., KURRLE, R., COLOMBO, M.P. Apoptosis induced by HIV-gp120 in a Th1 clone involves the generation of

- reactive oxygen intermediates downstream CD95 triggering. **FEBS Lett.**, v.411, n.1, p.87-92, 1997.
- RASOLA, A., GRAMAGLIA, D., BOCCACCIO, C., COMOGLIO, P.M. Apoptosis enhancement by the HIV-1 Nef protein. **J. Immunol.**, v.166, n.1, p.81-88, 2001.
- RIBOLDI, P., GAIDANO, G., SCHETTINO, E.W., STEGER, T.G., KNOWLES, D.M., DALLA-FAVERA, R., CASALI, P. Two acquired immunodeficiency syndrome-associated Burkitt' s lymphomas produce specific anti IgM cold agglutinins using somatically mutated VH4-21 segments. **Blood**, v.83, n.10, p.2952-2961, 1994.
- RICH, T., ALLEN, RL., WYLLIE, AH . Defying death after DNA damage. **Nature**, v.407, p. 777-783, 2000.
- ROBERTSON, D.L., ANDERSON, J.P., BRADAC, J.A., CARR, J.K., FOLEY, B., FUNKHOUSER, R.K., GAO, F., HAHN, B.H., KALISH, M.L., KUIKEN, C., LEARN, G.H., LEITNER, T., MCCUTCHAN, F., OSMANOV, S., PEETERS, M., PIENIAZEK, D., SALMINEN, M., SHARP, P.M., WOLINSKY, S., KORBER, B. HIV-1 nomenclature proposal. **Science**, v.288, n.5463, p.55-56, 2000.
- ROSENBERG, Z.F., FAUCI, A.S. Immunopathogenesis of HIV infection. **FASEB J.**, v.5, n.10, p.2382-2390, 1991.
- SCHULTZ, M., LEIST, M., PETRZIKA, M., GASSMANN, B., BRIGELIUS-FLOHE, R. Novel urinary metabolite of alpha-tocopherol, 2,5,7,8-tetramethyl-2(2'-carboxyethyl)-6-hydroxychroman, as an indicator of an adequate vitamin E supply? **Am. J. Clin. Nutr.**, v.62, supl. 6, p.1527S-1534S, 1995.
- SCHWEDHELM, E., MAAS, R., TROOST, R., BOGER, R.H. Clinical pharmacokinetics of antioxidants na their impact on systemic oxidative stress. **Clin. Pharmacokinet.**, v.42, n.5, p.437-459, 2003.
- SCRIMSHAW, N.S., SanGIOVANNI, J.P. Synergism of Nutrition, Infection and Immunity: an overview. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.66, p.464S-477S, 1997.
- SERB, P., YEUNG, S. HIV infection and the dentist. 1. The presence of HIV in saliva and its implications to dental practice. **Aust. Dent. J.**, v.39, n.2, p.67-72, 1994.
- SHOR-POSNER, G., LECUSAY, R., MORALES, G., CAMPA, A, MIGUEZ-BURBANO, M. Neuroprotection in HIV-Positive Drug Users: Implications for Antioxidant Therapy. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v.31, p.S84-S88, 2002.
- SMITH CJ, SABIN CA, LAMPE FC, KINLOCH-DE-LOES S, GUMLEY H, CARROLL A, PRINZ B, YOULE M, JOHNSON MA, PHILLIPS AN. The potential for CD4 cell increases in HIV-positive individuals who control viraemia with highly active anti-retroviral therapy. **AIDS**, v.17, n.7, p.963-969, 2003.

- STEPHENS, N.G., PARSONS, A., SCHOFIELD, P.M., KELLY, F., CHEESEMAN, K., MITCHINSON, M.J. Randomized controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS) **Lancet**, 347(9004):781-6, 1996.
- STOCKER, A.; AZZI, A. Tocopherol-Binding Proteins: Their Function and Physiological Significance. **Antiox. & Redox Sign.**, v.2, n.3, p.397-403,2000.
- TEIXEIRA L, VALDEZ H, MCCUNE JM, KOUP RA, BADLEY AD, HELLERSTEIN MK, NAPOLITANO LA, DOUEK DC, MBISA G, DEEKS S, HARRIS JM, BARBOUR JD, GROSS BH, FRANCIS IR, HALVORSEN R, ASAAD R, LEDERMAN MM. Poor CD4 T cell restoration after suppression of HIV-1 replication may reflect lower thymic function. **AIDS**, v.15, n.14, p.1749-1756, 2001.
- TRABER, M.G., PACKER, L. Vitamin E: beyond antioxidant function. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.62(suppl), p.1501S-1509S, 1995.
- TZANKO, SS., CHRISTOPHER, CB. Human Immunodeficiency virus type 1 and chemokines: Beyond competition for common cellular receptors. **Cytokine & Growth factor Reviews**, v.12, p.219-243, 2001.
- ULLUM, H., DIAMANT, M., VICTOR, J., GOTZSCHE, P. C., BENDTZEN, K., SKINHOJ, P., PEDERSEN, B.K. Increased Circulating Level of Interleukin-6 in HIV-seropositive subjects. **J. Acquir. Immune. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, n.3, v.1, p.93-94,1996.
- VERONESI, R., FOCACCIA, R., LOMAR, A.V. **Retrovíroses humanas - HIV/AIDS: etiologia, patogenia, patologia clínica, tratamento e prevenção.** São Paulo: Editora Atheneu, 2000. 436p.
- WANG, Y., HUANG, D.S., LIANG, B., WATSON, R.R. Nutritional status and immune responses in mice with murine AIDS are normalized by vitamin E supplementation. **J Nutr.**, v.124, n.10, p.2024-2032, 1994.
- WEIL, M., JACOBSON, M.D. COLES, H.S., DAVIES, T.J., GARDNER, R.L., RAFF, K.D., RAFF, M.C. Constitutive expression of the machinery for programmed cell death. **J. Cell Biol.**, v.133, p.1053-1059, 1996.
- WESTENDORP, M.O., FRANK, R., OCHSENBAUER, C., STRICKER, K., DHEIN, J., WALCZAK, H., DEBATIN, K.M., KRAMMER, P.H. Sensitization of T cells to CD95-mediated apoptosis by HIV-1 Tat and gp120. **Nature**, v.375, n.6531, p.497-500, 1995.
- WHO. Report on Global Surveillance of Epidemic-prone Infectious Diseases, World Health Organization and UNAIDS, 2000.
- WORKSHOP REPORT FROM THE EUROPEAN COMMISSION AND THE JOIN UNITED PROGRAMME ON HIV/AIDS 1997. **AIDS**, 11:UNAIDS 17- UNAIDS 36, 1997.
- YOUNG, B., KURITZKES, D.R. Viral kinetics: implications for treatment. **AIDS**, v.13, supl.1, p.S11-S17, 1999.

---

ZAITSEVA, M., LEE, S., LAPHAM, C., TAFFS, R., KING, L., ROMANTSEVA, T., MANISCHEWITZ, J., GOLDING, H. Interferon gamma and interleukin 6 modulate the susceptibility of macrophages to human immunodeficiency virus type 1 infection. **Blood**, v.96, n.9, p.3109-3117, 2000.

# **ANEXOS**



**ANEXO 1**

**Tabelas de resultados estatísticos dos marcadores avaliados**

**TABELA 03.** Níveis basais de linfócitos CD4<sup>+</sup>/mm<sup>3</sup> e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média*                 | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média*               | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 310 <sup>a</sup>       | 164              | 45              | 639             | 258 <sup>a</sup>     | 168              | 41              | 639             |
| 60              | 410 <sup>b</sup>       | 239              | 57              | 793             | 393 <sup>b</sup>     | 270              | 111             | 1057            |
| 120             | 430 <sup>b</sup>       | 218              | 96              | 808             | 362 <sup>b</sup>     | 212              | 138             | 890             |
| 180             | 465 <sup>b</sup>       | 246              | 125             | 885             | 379 <sup>b</sup>     | 225              | 62              | 870             |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p= 0.0002$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p= 0.6300$

\*Comparações múltiplas entre os tempos em cada tratamento avaliado através dos contrastes de repetição, diferença e Helmert. Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p<0.05$ .

n = Número de pacientes estudados

**TABELA 04.** Níveis basais de linfócitos CD8<sup>+</sup>/mm<sup>3</sup> e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média                  | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média                | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 908                    | 491              | 380             | 1987            | 898                  | 447              | 264             | 1987            |
| 60              | 826                    | 366              | 392             | 1614            | 719                  | 282              | 432             | 1557            |
| 120             | 826                    | 299              | 300             | 1316            | 782                  | 386              | 439             | 1691            |
| 180             | 826                    | 210              | 487             | 1414            | 803                  | 375              | 372             | 1741            |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p= 0.1376$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p= 0.9150$

n = Número de pacientes estudados

**TABELA 05.** Níveis basais de relação CD4/CD8, e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média                  | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média                | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 0,37 <sup>a</sup>      | 0,20             | 0,10            | 0,87            | 0,29 <sup>a</sup>    | 0,14             | 0,05            | 0,50            |
| 60              | 0,54 <sup>b</sup>      | 0,29             | 0,09            | 1,23            | 0,53 <sup>b</sup>    | 0,26             | 0,15            | 0,98            |
| 120             | 0,54 <sup>b</sup>      | 0,23             | 0,14            | 0,89            | 0,51 <sup>b</sup>    | 0,25             | 0,08            | 0,82            |
| 180             | 0,56 <sup>b</sup>      | 0,26             | 0,13            | 0,98            | 0,52 <sup>b</sup>    | 0,25             | 0,04            | 0,97            |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p= 0.0001$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p= 0.8935$

\*Comparações múltiplas entre os tempos em cada tratamento avaliado através dos contrastes de repetição, diferença e Helmert. Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p<0.05$ .

n = Número de pacientes estudados

**TABELA 06.** Níveis basais de linfócitos vivos, em percentual (%), e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média*                 | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média*               | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 22,63 <sup>a</sup>     | 18,45            | 2,51            | 55,55           | 22,04 <sup>a</sup>   | 15,10            | 2,54            | 53,40           |
| 60              | 31,79 <sup>b</sup>     | 15,24            | 11,15           | 56,28           | 25,60 <sup>a</sup>   | 13,16            | 2,75            | 46,26           |
| 120             | 35,38 <sup>b</sup>     | 17,25            | 10,96           | 58,70           | 28,78 <sup>a</sup>   | 14,67            | 8,89            | 56,29           |
| 180             | 44,17 <sup>b</sup>     | 18,96            | 15,06           | 73,22           | 54,79 <sup>b</sup>   | 23,21            | 13,25           | 81,09           |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p = 0.0002$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p = 0.0472$

\*Comparações múltiplas entre os tempos em cada tratamento avaliado através dos contrastes de repetição, diferença e Helmert. Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p<0.05$ .

n = Número de pacientes estudados

**TABELA 07.** Níveis basais de linfócitos em apoptose, em percentual (%), e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média*                 | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média*               | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 65,89 <sup>a</sup>     | 16,90            | 38,22           | 88,14           | 72,68 <sup>a</sup>   | 15,30            | 42,60           | 95,47           |
| 60              | 59,93 <sup>b</sup>     | 16,96            | 38,14           | 84,55           | 70,59 <sup>a</sup>   | 13,57            | 44,51           | 93,53           |
| 120             | 50,61 <sup>c</sup>     | 17,13            | 21,35           | 80,91           | 66,76 <sup>a</sup>   | 15,80            | 40,15           | 88,47           |
| 180             | 48,92 <sup>c</sup>     | 17,41            | 22,03           | 82,95           | 40,09 <sup>b</sup>   | 22,23            | 15,14           | 82,84           |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p = 0.0003$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p = 0.0321$

\*Comparações múltiplas entre os tempos em cada tratamento avaliado através dos contrastes de repetição, diferença e Helmert. Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

n = Número de pacientes estudados

**TABELA 08.** Níveis basais de linfócitos mortos, em percentual (%), e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média*                 | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média                | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 11,29 <sup>a</sup>     | 7,909            | 1,360           | 25,81           | 5,28                 | 2,72             | 1,89            | 11,2            |
| 60              | 8,21 <sup>b</sup>      | 6,841            | 0,420           | 24,98           | 3,81                 | 2,44             | 0,92            | 9,2             |
| 120             | 13,86 <sup>a</sup>     | 9,407            | 3,980           | 34,66           | 4,32                 | 2,57             | 1,64            | 9,3             |
| 180             | 6,91 <sup>b</sup>      | 5,938            | 1,990           | 21,91           | 5,12                 | 4,70             | 1,19            | 20,5            |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p = 0.0286$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p = 0.0728$

\*Comparações múltiplas entre os tempos em cada tratamento avaliado através dos contrastes de repetição, diferença e Helmert. Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

n = Número de pacientes estudados

**TABELA 09.** Níveis séricos basais de IgG (mg/dL), e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média*                 | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média*               | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 2300 <sup>a</sup>      | 705,7            | 1070            | 3450            | 2195 <sup>a</sup>    | 808,2            | 971             | 3680            |
| 60              | 1708 <sup>b</sup>      | 453,1            | 981             | 2490            | 1824 <sup>b</sup>    | 584,6            | 936             | 3110            |
| 120             | 1727 <sup>b</sup>      | 527,8            | 748             | 2640            | 1763 <sup>b</sup>    | 472,0            | 1000            | 2530            |
| 180             | 1694 <sup>b</sup>      | 500,4            | 767             | 2810            | 1730 <sup>b</sup>    | 452,3            | 985             | 2570            |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p = 0.0003$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p = 0.6171$

\*Comparações múltiplas entre os tempos em cada tratamento avaliado através dos contrastes de repetição, diferença e Helmert. Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

n = Número de pacientes estudados

**TABELA 10.** Níveis séricos basais de IgM (mg/dL), e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média*                 | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média*               | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 185,8 <sup>a</sup>     | 72,8             | 65,0            | 298,0           | 193,4 <sup>a</sup>   | 94,9             | 79,6            | 350,0           |
| 60              | 123,5 <sup>b</sup>     | 51,2             | 42,5            | 254,0           | 150,1 <sup>b</sup>   | 74,9             | 39,8            | 282,0           |
| 120             | 112,5 <sup>b</sup>     | 60,6             | 38,9            | 228,0           | 150,9 <sup>b</sup>   | 88,1             | 42,0            | 386,0           |
| 180             | 131,7 <sup>b</sup>     | 76,5             | 52,0            | 350,0           | 137,4 <sup>b</sup>   | 55,7             | 50,0            | 243,0           |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p = 0.0006$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p = 0.5466$

\*Comparações múltiplas entre os tempos em cada tratamento avaliado através dos contrastes de repetição, diferença e Helmert. Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

n = Número de pacientes estudados

**TABELA 11.** Níveis séricos basais de IgA (mg/dL), e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média*                 | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média*               | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 329 <sup>a</sup>       | 237,1            | 119             | 877             | 422 <sup>a</sup>     | 374,5            | 134             | 1510            |
| 60              | 276 <sup>b</sup>       | 176,0            | 103             | 730             | 383 <sup>a, b</sup>  | 313,3            | 123             | 1320            |
| 120             | 245 <sup>b</sup>       | 137,6            | 93              | 510             | 348 <sup>b</sup>     | 291,4            | 109             | 1190            |
| 180             | 260 <sup>b</sup>       | 120,7            | 105             | 484             | 324 <sup>c</sup>     | 256,3            | 96              | 1030            |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p = 0.0021$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p = 0.0265$

\*Comparações múltiplas entre os tempos em cada tratamento avaliado através dos contrastes de repetição, diferença e Helmert. Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

n = Número de pacientes estudados

**TABELA 12.** Níveis séricos basais de alfa-tocoferol, e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média*                 | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média*               | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 15,6 <sup>a</sup>      | 4,9              | 7,4             | 27,0            | 18,8 <sup>a</sup>    | 4,4              | 11,2            | 27,4            |
| 60              | 15,6 <sup>a</sup>      | 6,3              | 3,3             | 26,0            | 36,5 <sup>b</sup>    | 15,8             | 14,5            | 65,4            |
| 120             | 14,1 <sup>a</sup>      | 6,7              | 4,1             | 27,0            | 35,7 <sup>b</sup>    | 15,4             | 16,7            | 57,7            |
| 180             | 10,8 <sup>b</sup>      | 4,0              | 3,8             | 15,0            | 36,8 <sup>b</sup>    | 13,7             | 23,3            | 64,8            |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p = 0.0097$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p = 0.0002$

\*Comparações múltiplas entre os tempos em cada tratamento avaliado através dos contrastes de repetição, diferença e Helmert. Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

n = Número de pacientes estudados

**TABELA 13.** Níveis séricos basais de colesterol total (mg/dL), e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média                  | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média                | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 155                    | 38,3             | 89              | 218             | 172                  | 37,0             | 115             | 244             |
| 60              | 169                    | 35,7             | 120             | 227             | 182                  | 34,6             | 113             | 241             |
| 120             | 167                    | 40,3             | 114             | 270             | 175                  | 38,6             | 109             | 257             |
| 180             | 163                    | 38,5             | 115             | 251             | 178                  | 28,5             | 118             | 230             |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p = 0.1461$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p = 0.5796$

n = Número de pacientes estudados

**TABELA 14.** Níveis séricos basais de HDL-colesterol (mg/dL), e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média                  | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média                | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 36,0 <sup>a</sup>      | 10,1             | 17,0            | 52,0            | 31,6 <sup>a</sup>    | 13,0             | 9,0             | 52,0            |
| 60              | 41,7 <sup>b</sup>      | 13,2             | 19,0            | 70,0            | 37,1 <sup>b</sup>    | 10,1             | 21,0            | 57,0            |
| 120             | 45,0 <sup>b</sup>      | 12,4             | 21,0            | 67,0            | 37,1 <sup>b</sup>    | 11,6             | 22,0            | 61,0            |
| 180             | 42,0 <sup>b</sup>      | 13,4             | 22,0            | 71,0            | 36,1 <sup>b</sup>    | 13,9             | 21,0            | 75,0            |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p = 0.0026$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p = 0.7539$

\*Comparações múltiplas entre os tempos em cada tratamento avaliado através dos contrastes de repetição, diferença e Helmert. Letras diferentes indicam diferenças significativas;  $p < 0.05$ .

n = Número de pacientes estudados

**TABELA 15.** Níveis séricos basais de LDL-colesterol (mg/dL), e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média                  | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média                | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 104,9                  | 32,0             | 50,80           | 152,8           | 113,6                | 22,8             | 71,0            | 153,4           |
| 60              | 110,5                  | 30,1             | 60,60           | 154,0           | 120,2                | 27,0             | 68,8            | 169,4           |
| 120             | 104,5                  | 29,5             | 62,40           | 172,2           | 113,3                | 30,0             | 54,4            | 172,8           |
| 180             | 106,3                  | 31,7             | 52,80           | 151,8           | 116,0                | 23,5             | 73,0            | 163,8           |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p = 0.3836$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p = 0.9984$

n = Número de pacientes estudados

**TABELA 16.** Níveis séricos basais de VLDL-colesterol (mg/dL), e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média                  | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média                | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 14,3                   | 6,5              | 7,00            | 30,0            | 21,7                 | 11,4             | 9,2             | 38,6            |
| 60              | 16,7                   | 7,3              | 5,00            | 27,6            | 21,4                 | 11,4             | 9,0             | 39,6            |
| 120             | 17,6                   | 7,8              | 6,20            | 30,8            | 20,4                 | 7,2              | 11,4            | 29,2            |
| 180             | 16,3                   | 5,5              | 9,40            | 28,2            | 24,1                 | 11,1             | 9,6             | 40,8            |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p = 0.6277$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p = 0.2485$

n = Número de pacientes estudados



**TABELA 17.** Níveis séricos basais de triglicerídeos (mg/dL), e após 60, 120 e 180 dias de iniciados os tratamentos, nos pacientes dos grupos estudo e controle.

| TEMPO<br>(DIAS) | Grupo Controle<br>n=15 |                  |                 |                 | Grupo Estudo<br>n=14 |                  |                 |                 |
|-----------------|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|----------------------|------------------|-----------------|-----------------|
|                 | Média                  | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo | Média                | Desvio<br>Padrão | Valor<br>Mínimo | Valor<br>Máximo |
| 0               | 71,7                   | 32,3             | 35,0            | 150             | 108,3                | 57,20            | 46,00           | 193,0           |
| 60              | 81,8                   | 35,2             | 25,0            | 138             | 106,8                | 57,15            | 45,00           | 198,0           |
| 120             | 88,1                   | 39,2             | 31,0            | 154             | 102,1                | 36,03            | 57,00           | 146,0           |
| 180             | 81,4                   | 27,4             | 47,0            | 141             | 114,9                | 53,35            | 48,00           | 204,0           |

**Análise de variância para as hipóteses  $H_0$ :**

Não existe diferença entre os tempos:  $p = 0,7488$

Não existe diferença entre os tratamentos ao longo do tempo:  $p=0.4773$

n = Número de pacientes estudados

**ANEXO 2**

**Quadro com os resultados dos marcadores avaliados em cada paciente nos grupos controle e estudo**

**QUADRO 1.** RNA do HIV-1 (cópias/mL) no plasma dos pacientes soropositivos para o HIV submetidos a terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos 0, 60, 120, e 180 dias.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |       |       |      | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |       |      |      |
|------------------|----------------------|-------|-------|------|----------|------------------------|-------|------|------|
|                  | Tempo (dias)         |       |       |      |          | Tempo (dias)           |       |      |      |
|                  | 0                    | 60    | 120   | 180  |          | 0                      | 60    | 120  | 180  |
| 1                | 140000               | 1000  | 230   | 9000 | 4        | 64000                  | 80    | 840  | 410  |
| 11               | 170000               | 1400  | 1800  | 130  | 10       | 100000                 | 1100  | 80   | 930  |
| 14               | 55000                | 6300  | 240   | 80   | 12       | 72000                  | 80    | 80   | 180  |
| 15               | 110000               | 1500  | 80    | 80   | 16       | 110000                 | 5300  | 780  | 4300 |
| 17               | 45000                | 1800  | 1400  | 1400 | 24       | 190000                 | 6800  | 80   | 560  |
| 22               | 310000               | 1200  | 1400  | 310  | 25       | 48000                  | 1600  | 80   | 80   |
| 23               | 110000               | 7900  | 1200  | 760  | 29       | 80000                  | 4100  | 370  | 4600 |
| 26               | 58000                | 28000 | 14000 | 3400 | 32       | 2900                   | 5400  | 4900 | 350  |
| 28               | 200000               | 480   | 310   | 310  | 33       | 430000                 | 9000  | 430  | 460  |
| 30               | 170000               | 1300  | 1300  | 80   | 36       | 110000                 | 1600  | 1400 | 1300 |
| 31               | 63000                | 3800  | 80    | 160  | 37       | 61000                  | 1100  | 1200 | 670  |
| 35               | 25000                | 730   | 1200  | 1200 | 45       | 55000                  | 2500  | 1400 | 2000 |
| 44               | 84000                | 4000  | 310   | 80   | 46       | 75000                  | 12000 | 370  | 160  |
| 47               | 48000                | 1100  | 4100  | 1200 | 56       | 720000                 | 80    | 120  | 1100 |
|                  |                      |       |       |      | 57       | 110000                 | 2300  | 850  | 770  |
| Média            | 113.429              | 4.322 | 1975  | 1299 |          | 148.340                | 3.536 | 865  | 1191 |
| Desvio<br>Padrão | 78.418               | 7171  | 3618  | 2395 |          | 186.314                | 3554  | 1215 | 1415 |

**QUADRO 2.** Número de linfócitos CD4<sup>+</sup>/mm<sup>3</sup> nos pacientes soropositivos para o HIV submetidos a terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos 0,60,120, e 180 dias.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |      |     |     | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |     |     |     |
|------------------|----------------------|------|-----|-----|----------|------------------------|-----|-----|-----|
|                  | Tempo (dias)         |      |     |     |          | Tempo (dias)           |     |     |     |
|                  | 0                    | 60   | 120 | 180 |          | 0                      | 60  | 120 | 180 |
| 1                | 255                  | 258  | 184 | 204 | 4        | 123                    | 149 | 140 | 190 |
| 11               | 342                  | 771  | 627 | 773 | 10       | 124                    | 213 | 206 | 180 |
| 14               | 449                  | 355  | 330 | 392 | 12       | 446                    | 647 | 582 | 554 |
| 15               | 45                   | 152  | 201 | 232 | 16       | 420                    | 715 | 728 | 749 |
| 17               | 241                  | 495  | 364 | 474 | 24       | 190                    | 284 | 420 | 274 |
| 22               | 64                   | 111  | 138 | 62  | 25       | 291                    | 271 | 498 | 762 |
| 23               | 639                  | 1057 | 890 | 870 | 29       | 471                    | 784 | 517 | 545 |
| 26               | 321                  | 432  | 226 | 279 | 32       | 241                    | 267 | 251 | 346 |
| 28               | 268                  | 281  | 460 | 360 | 33       | 236                    | 394 | 346 | 471 |
| 30               | 88                   | 225  | 195 | 215 | 36       | 45                     | 57  | 96  | 125 |
| 31               | 41                   | 154  | 146 | 157 | 37       | 487                    | 619 | 737 | 825 |
| 35               | 366                  | 157  | 420 | 409 | 45       | 298                    | 300 | 410 | 394 |
| 44               | 201                  | 480  | 495 | 396 | 46       | 230                    | 272 | 291 | 346 |
| 47               | 291                  | 578  | 386 | 483 | 56       | 413                    | 388 | 415 | 336 |
|                  |                      |      |     |     | 57       | 639                    | 793 | 808 | 885 |
| Média            | 258                  | 393  | 362 | 379 |          | 310                    | 410 | 430 | 465 |
| Desvio<br>Padrão | 168                  | 270  | 212 | 225 |          | 164                    | 239 | 218 | 246 |

**QUADRO 3.** Número de linfócitos CD8<sup>+</sup>/mm<sup>3</sup> nos pacientes soropositivos para o HIV submetidos a terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos 0,60,120, e 180 dias.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |      |      |      | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |      |      |      |
|------------------|----------------------|------|------|------|----------|------------------------|------|------|------|
|                  | Tempo (dias)         |      |      |      |          | Tempo (dias)           |      |      |      |
|                  | 0                    | 60   | 120  | 180  |          | 0                      | 60   | 120  | 180  |
| 1                | 777                  | 941  | 613  | 604  | 4        | 747                    | 392  | 300  | 624  |
| 11               | 847                  | 786  | 985  | 938  | 10       | 559                    | 952  | 700  | 692  |
| 14               | 900                  | 607  | 470  | 589  | 12       | 1109                   | 800  | 682  | 683  |
| 15               | 432                  | 545  | 789  | 590  | 16       | 482                    | 550  | 1010 | 891  |
| 17               | 1190                 | 629  | 480  | 734  | 24       | 481                    | 770  | 1235 | 679  |
| 22               | 1308                 | 745  | 1691 | 1741 | 25       | 808                    | 705  | 707  | 775  |
| 23               | 1987                 | 1557 | 1227 | 1253 | 29       | 1461                   | 1494 | 718  | 881  |
| 26               | 731                  | 860  | 557  | 706  | 32       | 1190                   | 646  | 988  | 908  |
| 28               | 612                  | 489  | 624  | 372  | 33       | 532                    | 778  | 619  | 959  |
| 30               | 400                  | 432  | 629  | 563  | 36       | 432                    | 626  | 692  | 929  |
| 31               | 264                  | 502  | 439  | 525  | 37       | 841                    | 698  | 825  | 856  |
| 35               | 1242                 | 645  | 1348 | 1278 | 45       | 919                    | 613  | 920  | 729  |
| 44               | 1080                 | 723  | 627  | 734  | 46       | 380                    | 444  | 403  | 487  |
| 47               | 808                  | 610  | 472  | 624  | 56       | 1688                   | 1305 | 1316 | 887  |
|                  |                      |      |      |      | 57       | 1987                   | 1614 | 1270 | 1414 |
| Média            | 898                  | 719  | 782  | 803  |          | 908                    | 826  | 826  | 826  |
| Desvio<br>Padrão | 447                  | 282  | 386  | 375  |          | 491                    | 366  | 299  | 210  |

**QUADRO 4.** Relação CD4/CD8 nos pacientes soropositivos para o HIV submetidos a terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos 0,60,120, e 180 dias.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |      |      |      | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |      |      |      |
|------------------|----------------------|------|------|------|----------|------------------------|------|------|------|
|                  | Tempo (dias)         |      |      |      |          | Tempo (dias)           |      |      |      |
|                  | 0                    | 60   | 120  | 180  |          | 0                      | 60   | 120  | 180  |
| 1                | 0,33                 | 0,24 | 0,3  | 0,34 | 4        | 0,16                   | 0,38 | 0,47 | 0,3  |
| 11               | 0,4                  | 0,98 | 0,64 | 0,82 | 10       | 0,22                   | 0,22 | 0,3  | 0,26 |
| 14               | 0,5                  | 0,58 | 0,7  | 0,67 | 12       | 0,4                    | 0,81 | 0,85 | 0,81 |
| 15               | 0,1                  | 0,28 | 0,25 | 0,39 | 16       | 0,87                   | 1,23 | 0,72 | 0,84 |
| 17               | 0,2                  | 0,79 | 0,76 | 0,65 | 24       | 0,4                    | 0,37 | 0,34 | 0,4  |
| 22               | 0,05                 | 0,15 | 0,08 | 0,04 | 25       | 0,36                   | 0,74 | 0,7  | 0,98 |
| 23               | 0,32                 | 0,68 | 0,73 | 0,69 | 29       | 0,32                   | 0,52 | 0,72 | 0,53 |
| 26               | 0,44                 | 0,5  | 0,41 | 0,4  | 32       | 0,2                    | 0,41 | 0,25 | 0,38 |
| 28               | 0,44                 | 0,57 | 0,74 | 0,97 | 33       | 0,44                   | 0,51 | 0,58 | 0,49 |
| 30               | 0,22                 | 0,52 | 0,31 | 0,38 | 36       | 0,1                    | 0,09 | 0,14 | 0,13 |
| 31               | 0,16                 | 0,31 | 0,33 | 0,3  | 37       | 0,58                   | 0,89 | 0,89 | 0,96 |
| 35               | 0,29                 | 0,24 | 0,25 | 0,32 | 45       | 0,32                   | 0,49 | 0,45 | 0,54 |
| 44               | 0,19                 | 0,66 | 0,79 | 0,54 | 46       | 0,61                   | 0,61 | 0,72 | 0,71 |
| 47               | 0,36                 | 0,95 | 0,82 | 0,77 | 56       | 0,24                   | 0,3  | 0,32 | 0,38 |
|                  |                      |      |      |      | 57       | 0,32                   | 0,49 | 0,64 | 0,63 |
| Média            | 0,29                 | 0,53 | 0,51 | 0,52 |          | 0,37                   | 0,54 | 0,54 | 0,56 |
| Desvio<br>Padrão | 0,14                 | 0,27 | 0,25 | 0,25 |          | 0,20                   | 0,29 | 0,23 | 0,26 |

**QUADRO 5.** Percentual de linfócitos vivos (%) nos pacientes soropositivos para o HIV submetidos a terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos 0, 60, 120, e 180 dias.

| Paciente      | Grupo Estudo<br>n=14 |       |       |       | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |       |       |       |
|---------------|----------------------|-------|-------|-------|----------|------------------------|-------|-------|-------|
|               | Tempo (dias)         |       |       |       |          | Tempo (dias)           |       |       |       |
|               | 0                    | 60    | 120   | 180   |          | 0                      | 60    | 120   | 180   |
| 1             | 26,87                | ...   | ...   | 81,09 | 4        | 20,6                   | 49,47 | 49,7  | 51,21 |
| 11            | 32,5                 | 12,06 | 19,03 | 18,89 | 10       | 5,94                   | 18,35 | 17,53 | 35,78 |
| 14            | 2,54                 | ...   | ...   | 36,65 | 12       | 55,55                  | 56,28 | 58,7  | 62,27 |
| 15            | 12,72                | 33,5  | 37,96 | 33,8  | 16       | 3,56                   | 38,66 | 49,47 | 31,76 |
| 17            | 53,4                 | 37,16 | 15,18 | 81,06 | 24       | 23,83                  | 49,85 | 54,43 | 54,49 |
| 22            | 4,48                 | 46,26 | 35,13 | 54,9  | 25       | 18,94                  | 21,81 | 21,68 | 23,05 |
| 23            | 15,26                | 2,75  | 8,89  | 58,16 | 29       | 26,47                  | 11,98 | ...   | 68,42 |
| 26            | 42,08                | 19,71 | 17,67 | 58,08 | 32       | 4,71                   | 14,67 | 10,96 | 18,03 |
| 28            | 25,03                | 32,41 | 38,28 | 78,8  | 33       | 10,5                   | 11,15 | ...   | 63,53 |
| 30            | 34,9                 | 28,35 | 47,44 | 13,25 | 36       | 30,73                  | 36,62 | 47,19 | 54,51 |
| 31            | 25,73                | 34,76 | 56,29 | 67,06 | 37       | 27,3                   | 35,29 | 24,94 | 24,74 |
| 35            | 15,82                | 21,82 | 21,33 | 36,92 | 45       | 52,54                  | 30,72 | 20,5  | 48,57 |
| 44            | 4,19                 | 6,78  | 32,74 | 71,74 | 46       | 51,47                  | 47,35 | 27,24 | 73,22 |
| 47            | 13,05                | 31,65 | 15,43 | 76,69 | 56       | 4,77                   | 38,57 | 56,05 | 37,97 |
|               |                      |       |       |       | 57       | 2,51                   | 16,04 | 21,49 | 15,06 |
| Média         | 22,04                | 25,60 | 28,78 | 54,79 |          | 22,63                  | 31,79 | 35,38 | 44,17 |
| Desvio Padrão | 15,10                | 13,16 | 14,67 | 23,21 |          | 18,45                  | 15,24 | 17,25 | 18,96 |

**QUADRO 6.** Percentual de linfócitos em apoptose (%) nos pacientes soropositivos para o HIV submetidos a terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos 0, 60, 120, e 180 dias.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |       |       |       | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |       |       |       |
|------------------|----------------------|-------|-------|-------|----------|------------------------|-------|-------|-------|
|                  | Tempo (dias)         |       |       |       |          | Tempo (dias)           |       |       |       |
|                  | 0                    | 60    | 120   | 180   |          | 0                      | 60    | 120   | 180   |
| 1                | 64,34                | ...   | ...   | 15,14 | 4        | 59,64                  | 45,6  | 45,6  | 44,08 |
| 11               | 60,65                | 77,02 | 49,33 | 78,02 | 10       | 77,27                  | 73,95 | 69,17 | 58,9  |
| 14               | 95,47                | ...   | ...   | 59,29 | 12       | 38,22                  | 38,14 | 37,32 | 35,69 |
| 15               | 81,5                 | 71,24 | 82,75 | 59,31 | 16       | 86,58                  | 44,58 | 37,77 | 54,21 |
| 17               | 42,6                 | 60,87 | 82,32 | 15,7  | 24       | 68,06                  | 47,04 | 34,42 | 36,4  |
| 22               | 91,45                | 44,51 | 56,51 | 38,7  | 25       | 73,77                  | 73,71 | 64,09 | 74,88 |
| 23               | 82,85                | 93,53 | 88,47 | 37,87 | 29       | 72,17                  | 83,11 | ...   | 28,71 |
| 26               | 53,03                | 75,58 | 75,75 | 36,09 | 32       | 75,49                  | 72,8  | 80,91 | 71,12 |
| 28               | 67,88                | 65,04 | 58,14 | 17,22 | 33       | 88,14                  | 84,55 | ...   | 34,38 |
| 30               | 60,51                | 69,95 | 49,99 | 82,84 | 36       | 66,53                  | 62,96 | 46,94 | 40,52 |
| 31               | 70,77                | 58,77 | 40,15 | 31,5  | 37       | 46,89                  | 39,73 | 54,01 | 53,35 |
| 35               | 76,99                | 73,25 | 71,24 | 42,61 | 45       | 38,93                  | 53,25 | 44,84 | 48,71 |
| 44               | 84,64                | 91,92 | 65,49 | 27,07 | 46       | 42,16                  | 46,82 | 47,96 | 22,03 |
| 47               | 84,88                | 65,45 | 81,02 | 19,94 | 56       | 81,28                  | 50    | 21,35 | 47,82 |
|                  |                      |       |       |       | 57       | 73,24                  | 82,69 | 73,57 | 82,95 |
| Média            | 72,68                | 70,59 | 66,76 | 40,09 |          | 65,89                  | 59,93 | 50,61 | 48,92 |
| Desvio<br>Padrão | 15,30                | 13,57 | 15,80 | 22,23 |          | 16,90                  | 16,96 | 17,13 | 17,41 |



**QUADRO 7.** Percentual de linfócitos mortos (%) nos pacientes soropositivos para o HIV submetidos a terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos 0, 60, 120, e 180 dias.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |      |      |       | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |       |       |       |
|------------------|----------------------|------|------|-------|----------|------------------------|-------|-------|-------|
|                  | Tempo (dias)         |      |      |       |          | Tempo (dias)           |       |       |       |
|                  | 0                    | 60   | 120  | 180   |          | 0                      | 60    | 120   | 180   |
| 1                | 8,79                 | ...  | ...  | 3,77  | 4        | 19,76                  | 4,93  | 4,7   | 4,71  |
| 11               | 6,85                 | 0,92 | 1,64 | 3,09  | 10       | 16,79                  | 7,7   | 13,3  | 5,32  |
| 14               | 1,99                 | ...  | ...  | 4,06  | 12       | 6,23                   | 5,58  | 3,98  | 2,04  |
| 15               | 5,78                 | 5,26 | 9,29 | 6,89  | 16       | 9,86                   | 16,76 | 12,76 | 14,03 |
| 17               | 4                    | 1,97 | 2,5  | 3,24  | 24       | 8,11                   | 2,04  | 9,15  | 9,11  |
| 22               | 4,07                 | 9,23 | 8,36 | 6,4   | 25       | 7,29                   | 4,48  | 14,23 | 2,07  |
| 23               | 1,89                 | 3,72 | 2,64 | 3,97  | 29       | 1,36                   | 4,91  | ...   | 2,87  |
| 26               | 4,89                 | 4,71 | 6,58 | 5,83  | 32       | 16,95                  | 12,53 | 8,13  | 10,85 |
| 28               | 7,09                 | 2,55 | 3,58 | 3,98  | 33       | 1,36                   | 4,3   | ...   | 2,09  |
| 30               | 4,59                 | 1,7  | 2,57 | 3,91  | 36       | 2,74                   | 0,42  | 5,87  | 4,97  |
| 31               | 3,5                  | 6,47 | 3,56 | 1,44  | 37       | 25,81                  | 24,98 | 21,05 | 21,91 |
| 35               | 7,19                 | 4,93 | 5,78 | 20,47 | 45       | 8,53                   | 16,03 | 34,66 | 2,72  |
| 44               | 11,17                | 1,3  | 1,77 | 1,19  | 46       | 6,37                   | 5,83  | 24,8  | 4,75  |
| 47               | 2,07                 | 2,9  | 3,55 | 3,37  | 56       | 13,95                  | 11,43 | 22,6  | 14,21 |
|                  |                      |      |      |       | 57       | 24,25                  | 1,27  | 4,94  | 1,99  |
| Média            | 5,28                 | 3,81 | 4,32 | 5,12  |          | 11,29                  | 8,21  | 13,86 | 6,91  |
| Desvio<br>Padrão | 2,72                 | 2,44 | 2,57 | 4,70  |          | 7,91                   | 6,84  | 9,41  | 5,94  |

**QUADRO 8.** Níveis séricos de IgG (mg/dL) nos pacientes soropositivos para o HIV-1 submetidos a terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos 0, 60, 120, e 180 dias.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |       |       |       | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |       |       |       |
|------------------|----------------------|-------|-------|-------|----------|------------------------|-------|-------|-------|
|                  | Tempo (dias)         |       |       |       |          | Tempo (dias)           |       |       |       |
|                  | 0                    | 60    | 120   | 180   |          | 0                      | 60    | 120   | 180   |
| 1                | 2470                 | 2280  | 2100  | 1880  | 4        | 2610                   | 1780  | 1990  | 1580  |
| 11               | 2210                 | 1730  | 1700  | 1730  | 10       | 1990                   | 1840  | 1700  | 1560  |
| 14               | 1140                 | 936   | 1000  | 985   | 12       | 1980                   | 1300  | 748   | 767   |
| 15               | 1640                 | 1870  | 2000  | 1810  | 16       | 2080                   | 2490  | 2460  | 2810  |
| 17               | 1150                 | 997   | 1000  | 1150  | 24       | 2760                   | 1720  | 2060  | 1860  |
| 22               | 3070                 | 2510  | 2530  | 2570  | 25       | 3100                   | 2430  | 1850  | 1930  |
| 23               | 2150                 | 1270  | 1510  | 1320  | 29       | 1610                   | 1570  | 1580  | 1850  |
| 26               | 2540                 | 1910  | 1990  | 1920  | 32       | 1070                   | 1470  | 1290  | 1380  |
| 28               | 971                  | 1400  | 1240  | 1150  | 33       | 3390                   | 2080  | 1840  | 1710  |
| 30               | 1840                 | 1630  | 1710  | 2030  | 36       | 3450                   | 2350  | 2390  | 2120  |
| 31               | 3680                 | 3110  | 2500  | 2340  | 37       | 2650                   | 1530  | 1210  | 1490  |
| 35               | 1999                 | 1965  | 1840  | 1820  | 45       | 2470                   | 1280  | 2640  | 1930  |
| 44               | 2770                 | 2100  | 1900  | 1860  | 46       | 1360                   | 981   | 1150  | 1300  |
| 47               | 3100                 | 1830  | 1660  | 1650  | 56       | 1830                   | 1340  | 1440  | 971   |
|                  |                      |       |       |       | 57       | 2150                   | 1470  | 1560  | 2150  |
| Média            | 2195                 | 1824  | 1763  | 1730  |          | 2300                   | 1708  | 1727  | 1694  |
| Desvio<br>Padrão | 808,2                | 584,6 | 472,0 | 452,3 |          | 705,7                  | 453,1 | 527,8 | 500,4 |

**QUADRO 9.** Níveis séricos de IgM (mg/dL) nos pacientes soropositivos para o HIV-1 submetidos a terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos 0, 60, 120, e 180 dias.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |       |       |       | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |       |       |       |
|------------------|----------------------|-------|-------|-------|----------|------------------------|-------|-------|-------|
|                  | Tempo (dias)         |       |       |       |          | Tempo (dias)           |       |       |       |
|                  | 0                    | 60    | 120   | 180   |          | 0                      | 60    | 120   | 180   |
| 1                | 296                  | 251   | 147   | 115   | 4        | 218                    | 141   | 160   | 141   |
| 11               | 90,4                 | 39,8  | 42    | 50    | 10       | 281                    | 254   | 228   | 193   |
| 14               | 101                  | 249   | 134   | 133   | 12       | 170                    | 141   | 38,9  | 69,1  |
| 15               | 108                  | 82,8  | 107   | 85,4  | 16       | 146                    | 120   | 114   | 100   |
| 17               | 227                  | 161   | 141   | 158   | 24       | 298                    | 173   | 174   | 223   |
| 22               | 345                  | 194   | 189   | 216   | 25       | 158                    | 126   | 101   | 116   |
| 23               | 350                  | 282   | 197   | 176   | 29       | 121                    | 134   | 145   | 125   |
| 26               | 183                  | 118   | 123   | 118   | 32       | 65                     | 73    | 63    | 84    |
| 28               | 79,6                 | 87    | 68,1  | 68    | 33       | 165                    | 92,7  | 85,8  | 70,9  |
| 30               | 134                  | 115   | 121   | 243   | 36       | 298                    | 118   | 113   | 107   |
| 31               | 282                  | 157   | 99    | 154   | 37       | 113                    | 42,5  | 39,6  | 52    |
| 35               | 228                  | 193   | 266   | 189   | 45       | 200                    | 102   | 105   | 151   |
| 44               | 125                  | 71,1  | 386   | 125   | 46       | 122                    | 86,8  | 50,2  | 120   |
| 47               | 158                  | 101   | 92,5  | 92,9  | 56       | 163                    | 76,8  | 58    | 72,9  |
|                  |                      |       |       |       | 57       | 269                    | 173   | 213   | 350   |
| Média            | 193,4                | 150,1 | 150,9 | 137,4 |          | 185,8                  | 123,5 | 112,5 | 131,7 |
| Desvio<br>Padrão | 94,9                 | 74,9  | 88,1  | 55,7  |          | 72,8                   | 51,2  | 60,6  | 76,5  |

**QUADRO 10.** Níveis séricos de IgA (mg/dL) nos pacientes soropositivos para o HIV-1 submetidos a terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos 0, 60, 120, e 180 dias.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |       |       |       | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |       |       |       |
|------------------|----------------------|-------|-------|-------|----------|------------------------|-------|-------|-------|
|                  | Tempo (dias)         |       |       |       |          | Tempo (dias)           |       |       |       |
|                  | 0                    | 60    | 120   | 180   |          | 0                      | 60    | 120   | 180   |
| 1                | 277                  | 161   | 186   | 174   | 4        | 576                    | 432   | 474   | 484   |
| 11               | 217                  | 214   | 214   | 238   | 10       | 142                    | 131   | 123   | 107   |
| 14               | 299                  | 322   | 195   | 183   | 12       | 471                    | 421   | 279   | 287   |
| 15               | 410                  | 451   | 500   | 521   | 16       | 233                    | 206   | 181   | 191   |
| 17               | 243                  | 179   | 141   | 149   | 24       | 224                    | 231   | 228   | 252   |
| 22               | 995                  | 705   | 690   | 645   | 25       | 216                    | 191   | 190   | 284   |
| 23               | 134                  | 169   | 109   | 96    | 29       | 209                    | 199   | 151   | 225   |
| 26               | 458                  | 486   | 386   | 366   | 32       | 188                    | 254   | 207   | 230   |
| 28               | 269                  | 270   | 272   | 230   | 33       | 577                    | 425   | 384   | 366   |
| 30               | 320                  | 403   | 284   | 256   | 36       | 877                    | 730   | 510   | 438   |
| 31               | 1510                 | 1320  | 1190  | 1030  | 37       | 124                    | 103   | 93    | 105   |
| 35               | 318                  | 340   | 384   | 362   | 45       | 119                    | 111   | 124   | 153   |
| 44               | 249                  | 123   | 122   | 125   | 46       | 193                    | 164   | 176   | 218   |
| 47               | 216                  | 215   | 194   | 165   | 56       | 645                    | 425   | 429   | 422   |
|                  |                      |       |       |       | 57       | 136                    | 114   | 130   | 134   |
| Média            | 422                  | 383   | 348   | 324   |          | 329                    | 276   | 245   | 260   |
| Desvio<br>Padrão | 374,5                | 313,3 | 291,4 | 256,3 |          | 237,1                  | 176,0 | 137,6 | 120,7 |

**QUADRO 11.** Níveis séricos de alfa-tocoferol ( $\mu\text{M}$ ) nos pacientes soropositivos para o HIV submetidos a terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos 0, 60, 120, e 180 dias.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |      |      |      | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |      |      |      |
|------------------|----------------------|------|------|------|----------|------------------------|------|------|------|
|                  | Tempo (dias)         |      |      |      |          | Tempo (dias)           |      |      |      |
|                  | 0                    | 60   | 120  | 180  |          | 0                      | 60   | 120  | 180  |
| 1                | 22,3                 | 57,5 | 56,3 | 64,8 | 4        | 16,4                   | 19,4 | 17,5 | 11,6 |
| 11               | 15,8                 | 53,7 | 28,2 | 36,7 | 10       | 17,4                   | 16,6 | 13,8 | 13,7 |
| 14               | 11,2                 | 49,4 | 57,7 | 53   | 12       | 12,5                   | 15,1 | 15,9 | 13,4 |
| 15               | 19,2                 | 27,5 | 29,8 | 26,9 | 16       | 12,3                   | 9,1  | 7,3  | 12,4 |
| 17               | 21,8                 | 35,5 | 48,2 | 38,8 | 24       | 11,7                   | 7,1  | 15,3 | 4,2  |
| 22               | 21,2                 | 18,5 | 24   | 28,1 | 25       | 19,8                   | 19,9 | ...  | ...  |
| 23               | 27,4                 | 38,8 | 26,8 | 41,6 | 29       | 16,6                   | 21,2 | 21,7 | 11,6 |
| 26               | 14,3                 | 31,1 | 21,5 | 24,1 | 32       | 15,1                   | 10,3 | 9,6  | 4    |
| 28               | 13,6                 | 14,5 | 22,5 | 28,2 | 33       | 7,4                    | 15,3 | 5,1  | 13,2 |
| 30               | 20                   | 65,4 | 56,3 | 57,1 | 36       | 14                     | 15,5 | 4,1  | 8,8  |
| 31               | 19,5                 | ...  | ...  | ...  | 37       | 11                     | 3,3  | 9,3  | 3,8  |
| 35               | 21,3                 | 34,8 | 50,6 | 26,9 | 45       | 16,2                   | 16,4 | 11,6 | 12,8 |
| 44               | 21,9                 | 25,8 | 25,8 | 23,3 | 46       | 27,4                   | 22,5 | 27,1 | 15,2 |
| 47               | 14,3                 | 21,6 | 16,7 | 28,7 | 56       | 20,5                   | 26,2 | 21,8 | 11,4 |
|                  |                      |      |      |      | 57       | ...                    | ...  | 16,7 | 14,6 |
| Média            | 18,8                 | 36,5 | 35,7 | 36,8 |          | 15,6                   | 15,6 | 14,1 | 10,8 |
| Desvio<br>Padrão | 4,4                  | 15,8 | 15,4 | 13,7 |          | 4,9                    | 6,3  | 6,7  | 4,0  |

**QUADRO 12.** Níveis séricos de colesterol total (mg/dL) nos pacientes portadores do HIV-1 submetidos à terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos (dias) 0, 60, 120 e 180.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |      |      |      | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |      |      |      |
|------------------|----------------------|------|------|------|----------|------------------------|------|------|------|
|                  | Tempo (dias)         |      |      |      |          | Tempo (dias)           |      |      |      |
|                  | 0                    | 60   | 120  | 180  |          | 0                      | 60   | 120  | 180  |
| 1                | 185                  | 241  | 213  | 178  | 4        | 194                    | 187  | 172  | 162  |
| 11               | 124                  | 157  | 139  | 163  | 10       | 127                    | 146  | 146  | 146  |
| 14               | 244                  | 210  | 257  | 230  | 12       | 89                     | 120  | 116  | 133  |
| 15               | 230                  | 227  | 213  | 193  | 16       | 131                    | 133  | 134  | 140  |
| 17               | 140                  | 166  | 178  | 170  | 24       | 190                    | 163  | 179  | 147  |
| 22               | 162                  | 153  | 139  | 161  | 25       | 117                    | 128  | 114  | 115  |
| 23               | 180                  | 193  | 199  | 220  | 29       | 162                    | 172  | 171  | 190  |
| 26               | 186                  | 171  | 172  | 163  | 32       | 140                    | 126  | 131  | 127  |
| 28               | 150                  | 165  | 140  | 180  | 33       | 104                    | 184  | 171  | 199  |
| 30               | 190                  | 184  | 176  | 159  | 36       | 176                    | 169  | 193  | 191  |
| 31               | 137                  | 167  | 150  | 177  | 37       | 210                    | 227  | 197  | 206  |
| 35               | 183                  | 227  | 193  | 211  | 45       | 218                    | 208  | 270  | 251  |
| 44               | 175                  | 180  | 169  | 172  | 46       | 169                    | 194  | 157  | 127  |
| 47               | 115                  | 113  | 109  | 118  | 56       | 145                    | 145  | 148  | 128  |
|                  |                      |      |      |      | 57       | 157                    | 227  | 208  | 180  |
| Média            | 172                  | 182  | 175  | 178  |          | 155                    | 169  | 167  | 163  |
| Desvio<br>Padrão | 37,0                 | 34,6 | 38,6 | 28,5 |          | 38,3                   | 35,7 | 40,3 | 38,5 |

**QUADRO 13.** Níveis séricos de HDL-colesterol (mg/dL) nos pacientes portadores do HIV-1 submetidos à terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos (dias) 0, 60, 120 e 180.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |      |      |      | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |      |      |      |
|------------------|----------------------|------|------|------|----------|------------------------|------|------|------|
|                  | Tempo (dias)         |      |      |      |          | Tempo (dias)           |      |      |      |
|                  | 0                    | 60   | 120  | 180  |          | 0                      | 60   | 120  | 180  |
| 1                | 23                   | 32   | 27   | 24   | 4        | 44                     | 41   | 47   | 43   |
| 11               | 16                   | 33   | 30   | 25   | 10       | 31                     | 33   | 33   | 34   |
| 14               | 52                   | 57   | 55   | 53   | 12       | 26                     | 40   | 39   | 34   |
| 15               | 42                   | 38   | 34   | 39   | 16       | 17                     | 19   | 21   | 22   |
| 17               | 39                   | 43   | 45   | 35   | 24       | 34                     | 26   | 48   | 37   |
| 22               | 20                   | 27   | 26   | 21   | 25       | 34                     | 48   | 36   | 34   |
| 23               | 42                   | 45   | 45   | 37   | 29       | 52                     | 52   | 50   | 46   |
| 26               | 31                   | 29   | 33   | 25   | 32       | 45                     | 47   | 52   | 50   |
| 28               | 30                   | 34   | 32   | 38   | 33       | 24                     | 31   | 35   | 38   |
| 30               | 18                   | 34   | 44   | 36   | 36       | 30                     | 33   | 41   | 31   |
| 31               | 9                    | 21   | 26   | 29   | 37       | 47                     | 70   | 66   | 70   |
| 35               | 49                   | 38   | 61   | 75   | 45       | 47                     | 55   | 67   | 71   |
| 44               | 38                   | 55   | 22   | 36   | 46       | 45                     | 39   | 41   | 42   |
| 47               | 34                   | 33   | 40   | 33   | 56       | 33                     | 36   | 41   | 36   |
|                  |                      |      |      |      | 57       | 31                     | 56   | 58   | 42   |
| Média            | 31,6                 | 37,1 | 37,1 | 36,1 |          | 36,0                   | 41,7 | 45,0 | 42,0 |
| Desvio<br>Padrão | 13,0                 | 10,1 | 11,6 | 13,9 |          | 10,1                   | 13,2 | 12,4 | 13,4 |

**QUADRO 14.** Níveis séricos de LDL-colesterol (mg/dL) nos pacientes portadores do HIV-1 submetidos à terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos (dias) 0, 60, 120 e 180.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |       |       |       | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |       |       |       |
|------------------|----------------------|-------|-------|-------|----------|------------------------|-------|-------|-------|
|                  | Tempo (dias)         |       |       |       |          | Tempo (dias)           |       |       |       |
|                  | 0                    | 60    | 120   | 180   |          | 0                      | 60    | 120   | 180   |
| 1                | 129,6                | 169,4 | 157,8 | 133,6 | 4        | 137,6                  | 133,6 | 111,4 | 106,2 |
| 11               | 84                   | 87,2  | 81,8  | 100,2 | 10       | 84,8                   | 101,4 | 96,6  | 98,6  |
| 14               | 153,4                | 125,6 | 172,8 | 148,8 | 12       | 50,8                   | 70,4  | 68    | 82,6  |
| 15               | 136,6                | 154,4 | 120,8 | 113,6 | 16       | 103                    | 87    | 89,2  | 97,8  |
| 17               | 85,8                 | 112,2 | 119,2 | 123,4 | 24       | 141,2                  | 113,8 | 106,2 | 131,2 |
| 22               | 104,6                | 107,8 | 96,4  | 107,4 | 25       | 73                     | 60,6  | 62,4  | 71    |
| 23               | 128,6                | 137,6 | 138,6 | 163,8 | 29       | 101,4                  | 104   | 113,2 | 129,6 |
| 26               | 119                  | 108,2 | 109,8 | 99,4  | 32       | 75,8                   | 70,6  | 68,6  | 52,8  |
| 28               | 105,6                | 120,4 | 96,6  | 132,4 | 33       | 66,6                   | 148   | 116,2 | 149,4 |
| 30               | 119,6                | 120,2 | 102,8 | 90,6  | 36       | 116                    | 118,8 | 127,4 | 134,8 |
| 31               | 99,6                 | 103,4 | 98,2  | 106,6 | 37       | 152                    | 147,2 | 124,8 | 119,5 |
| 35               | 124,6                | 154,4 | 118,6 | 116   | 45       | 152,8                  | 130   | 172,2 | 151,8 |
| 44               | 127,8                | 113,8 | 117,8 | 115,2 | 46       | 113,8                  | 127,4 | 86,4  | 62,4  |
| 47               | 71                   | 68,8  | 54,4  | 73    | 56       | 86                     | 90,6  | 87,8  | 78,6  |
|                  |                      |       |       |       | 57       | 119                    | 154   | 137,2 | 128,6 |
| Média            | 113,6                | 120,2 | 113,3 | 116,0 |          | 104,9                  | 110,5 | 104,5 | 106,3 |
| Desvio<br>Padrão | 22,8                 | 27,0  | 30,0  | 23,5  |          | 32,0                   | 30,1  | 29,5  | 31,7  |



**QUADRO 15.** Níveis séricos de VLDL-colesterol (mg/dL) nos pacientes portadores do HIV-1 submetidos à terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos (dias) 0, 60, 120 e 180.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |      |      |      | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |      |      |      |
|------------------|----------------------|------|------|------|----------|------------------------|------|------|------|
|                  | Tempo (dias)         |      |      |      |          | Tempo (dias)           |      |      |      |
|                  | 0                    | 60   | 120  | 180  |          | 0                      | 60   | 120  | 180  |
| 1                | 32,4                 | 39,6 | 28,2 | 20,4 | 4        | 12,4                   | 12,4 | 13,6 | 12,8 |
| 11               | 24                   | 36,8 | 27,2 | 37,8 | 10       | 11,2                   | 9,6  | 16,4 | 13,4 |
| 14               | 38,6                 | 27,4 | 29,2 | 28,2 | 12       | 12,2                   | 9,6  | 9    | 16,4 |
| 15               | 12,4                 | 9    | 12,8 | 15,6 | 16       | 11                     | 27   | 23,8 | 20,2 |
| 17               | 15,2                 | 10,8 | 13,8 | 11,6 | 24       | 14,8                   | 23,2 | 24,8 | 15,8 |
| 22               | 37,4                 | 18,2 | 16,6 | 32,6 | 25       | 10                     | 19,4 | 15,6 | 10   |
| 23               | 9,4                  | 10,4 | 15,4 | 19,2 | 29       | 8,6                    | 16   | 7,8  | 14,4 |
| 26               | 36                   | 33,8 | 29,2 | 38,6 | 32       | 19,2                   | 8,4  | 10,4 | 14,2 |
| 28               | 14,4                 | 10,6 | 11,4 | 9,6  | 33       | 13,4                   | 5    | 19,8 | 11,6 |
| 30               | 26,4                 | 18,2 | 19   | 15,6 | 36       | 30                     | 24,2 | 24,6 | 25,2 |
| 31               | 28,4                 | 27,2 | 25,8 | 40,8 | 37       | 11                     | 9,8  | 6,2  | 16,4 |
| 35               | 9,4                  | 34,6 | 13,4 | 20   | 45       | 18,2                   | 23   | 30,8 | 28,2 |
| 44               | 9,2                  | 11,2 | 29,2 | 35,2 | 46       | 10,2                   | 27,6 | 29,6 | 22,6 |
| 47               | 10                   | 11,2 | 14,6 | 12   | 56       | 26                     | 18,4 | 19,2 | 13,4 |
|                  |                      |      |      |      | 57       | 7                      | 17   | 12,8 | 9,4  |
| Média            | 21,7                 | 21,4 | 20,4 | 24,1 |          | 14,3                   | 16,7 | 17,6 | 16,3 |
| Desvio<br>Padrão | 11,4                 | 11,4 | 7,2  | 11,1 |          | 6,5                    | 7,3  | 7,8  | 5,5  |

**QUADRO 16.** Níveis séricos de triglicerídeos (mg/dL) nos pacientes portadores do HIV-1 submetidos à terapia anti-retroviral, dos grupos Controle e Estudo, nos tempos (dias) 0, 60, 120 e 180.

| Paciente         | Grupo Estudo<br>n=14 |      |      |      | Paciente | Grupo Controle<br>n=15 |      |      |      |
|------------------|----------------------|------|------|------|----------|------------------------|------|------|------|
|                  | Tempo (dias)         |      |      |      |          | Tempo (dias)           |      |      |      |
|                  | 0                    | 60   | 120  | 180  |          | 0                      | 60   | 120  | 180  |
| 1                | 162                  | 198  | 141  | 102  | 4        | 62                     | 62   | 68   | 64   |
| 11               | 120                  | 184  | 136  | 189  | 10       | 56                     | 48   | 82   | 68   |
| 14               | 193                  | 137  | 146  | 141  | 12       | 61                     | 48   | 45   | 82   |
| 15               | 62                   | 45   | 64   | 78   | 16       | 55                     | 135  | 119  | 101  |
| 17               | 76                   | 54   | 69   | 58   | 24       | 74                     | 116  | 124  | 79   |
| 22               | 187                  | 91   | 83   | 163  | 25       | 50                     | 97   | 78   | 50   |
| 23               | 47                   | 52   | 77   | 96   | 29       | 43                     | 80   | 39   | 72   |
| 26               | 180                  | 169  | 146  | 193  | 32       | 96                     | 42   | 52   | 71   |
| 28               | 72                   | 53   | 57   | 48   | 33       | 67                     | 25   | 99   | 58   |
| 30               | 132                  | 91   | 95   | 78   | 36       | 150                    | 95   | 123  | 126  |
| 31               | 142                  | 136  | 129  | 204  | 37       | 55                     | 49   | 31   | 82   |
| 35               | 47                   | 173  | 67   | 100  | 45       | 91                     | 115  | 154  | 141  |
| 44               | 46                   | 56   | 146  | 98   | 46       | 51                     | 138  | 148  | 113  |
| 47               | 50                   | 56   | 73   | 60   | 56       | 130                    | 92   | 96   | 67   |
|                  |                      |      |      |      | 57       | 35                     | 85   | 64   | 47   |
| Média            | 108                  | 107  | 102  | 115  |          | 72                     | 82   | 88   | 81   |
| Desvio<br>Padrão | 57,2                 | 57,1 | 36,0 | 53,3 |          | 32,3                   | 35,2 | 39,2 | 27,4 |

**ANEXO 3**

**Parecer do comitê em pesquisa com seres humanos da  
Universidade Federal de Santa Catarina**



**ANEXO 4**  
**Parecer da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa**  
**(CONEP) do Ministério da Saúde**

