



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

HELENA KAMINAMI MORIMOTO

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS, DA
ADIPONECTINA E DO ESTRESSE OXIDATIVO EM
PACIENTES INFECTADOS PELO VÍRUS DA
IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA TIPO 1 (HIV-1)**

HELENA KAMINAMI MORIMOTO

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS, DA
ADIPONECTINA E DO ESTRESSE OXIDATIVO EM
PACIENTES INFECTADOS PELO VÍRUS DA
IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA TIPO 1 (HIV-1)**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina como requisito para obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Edna Maria Vissoci Reiche.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Andrea Name Colado Simão.

Londrina
2015

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

M857a Morimoto, Helena Kaminami.

Avaliação das alterações metabólicas, da adiponectina e do estresse oxidativo em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) / Helena Kaminami Morimoto. – Londrina, 2015.

77 f. il.

Orientador: Edna Maria Vissoci Reiche.

Coorientador: Andrea Name Colado Simão.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2015.

Inclui bibliografia.

1. Infecções por HIV – Teses. 2. Síndrome metabólica – Teses. 3. Stress oxidativo – Teses. 4. Adiponectina – Teses. I. Reiche, Edna Maria Vissoci. II. Simão, Andrea Name Colado. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU 616.988-008.64

HELENA KAMINAMI MORIMOTO

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS, DA
ADIPONECTINA E DO ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES
INFECTADOS PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA TIPO
1 (HIV-1)**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina como requisito para obtenção do título de Doutor.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Edna Maria Vissoci
Reiche
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Isaias Dichi
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Carolina Panis
Universidade Estadual do Oeste do Paraná -
UNIOESTE

Prof. Dr. Marcell Alysson Batisti Lozovoy
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Jaqueline Dario Capobiango
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 10 de julho de 2015.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que por sua presença, luz e força sempre me abençoa e me capacita para tudo aquilo que Ele me destina.

À minha orientadora Dra. Edna Maria Vissoci Reiche, a quem tenho um profundo respeito, admiração e uma grande amizade e carinho, que sempre me incentivou na minha vida profissional e possibilitou o desenvolvimento e conclusão desta tese.

À minha co-orientadora Dra. Andrea Name Colado Simão, a quem sou eternamente grata e tenho uma imensa admiração pela grande sabedoria e que sempre esteve presente e que auxiliou e possibilitou a conclusão desta tese.

À Prof^a. Dra. Elaine Regina Delicato de Almeida, minha companheira durante o desenvolvimento desse projeto de pesquisa e amiga, que contribuiu com sua valiosa ajuda na etapa de coleta de materiais biológicos e nas entrevistas com os pacientes.

Às doutorandas Ana Paula Kallaur, Sayonara Rangel Oliveira e Franciele Delongui, pela presença desde o início desse projeto de pesquisa e que também proporcionaram que esta tese fosse concluída

Às mestrandas Tamires Flauzino e Daniela Frizon Alfieri que colaboraram com a realização desse projeto.

Ao enfermeiro Luis Toshio Ueda e a todos os funcionários do Centro Integrado de Doenças Infecciosas do Ambulatório de DST/aids da 17^a Regional de Saúde do Paraná, pela colaboração na coleta de materiais biológicos e na consulta aos prontuários.

Aos pacientes que participaram do projeto, pela generosidade em querer ajudar nesta pesquisa, pois sabiam que por meio dela, outros pacientes poderiam se beneficiar com os resultados encontrados. Deus abençoe vocês.

Ao docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, por todo ensinamento.

Ao Programa de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde, pelo incentivo à

pesquisa e apoio institucional.

Aos funcionários e professores do Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina (HU/UEL), pela colaboração na realização dos exames apresentados neste estudo.

Aos funcionários e professores do Setor de Imunologia Clínica do LAC do HU/UEL, pelo colaboração, incentivo e compreensão durante as minhas ausências para que eu pudesse concluir esta tese.

A todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste projeto.

Muito obrigada a todos!!!

“O Brasil, através de segmentos representativos, por suas características e potencialidades, pode-se constituir num exemplo de mobilização (...) difundindo outra visão sobre a epidemia que restaure a cura como perspectiva e a solidariedade como princípio de todo o trabalho de prevenção”.

Herbert de Souza, o Betinho, 1989

“Our mission is to build a better world. To leave no one behind. To stand for the poorest and the most vulnerable in the name of global peace and social justice.”

Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS
(UNAIDS)

MORIMOTO, Helena Kaminami. **Avaliação das alterações metabólicas, da adiponectina e do estresse oxidativo em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1)**. 2015. 77 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

RESUMO

O estresse oxidativo é uma condição caracterizada por um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) e a sua neutralização pelas defesas antioxidantes, levando ao acúmulo de ERO e ERN e seus metabólitos, com alterações no estado *redox* da célula. Estas espécies reativas podem agir sobre os componentes biológicos e induzir ao processo oxidativo e nitrosativo em lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos. Uma grande variedade de doenças crônicas apresenta estresse oxidativo e nitrosativo como parte da patogênese, incluindo a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1). A relação entre estresse oxidativo e nitrosativo e a infecção pelo HIV-1 reside no fato de que as ER e seus metabólitos são componentes importantes nos eventos das respostas imunes inata e adaptativa. Por outro lado, estudos mostraram papéis específicos para os eventos oxidativos, tanto da imunidade do hospedeiro quanto da biologia do vírus. A ocorrência do estresse oxidativo em pacientes infectados pelo HIV-1 tem sido implicada na progressão da doença, assim como no desenvolvimento de doenças secundárias, tais como doenças cardiovasculares, resistência à insulina e síndrome metabólica (SM). O objetivo do presente estudo foi avaliar o papel da SM e estresse oxidativo em pacientes infectados pelo HIV-1 e caracterizar os eventos do estado *redox* e suas implicações clínicas nas características da doença. Participaram do estudo 285 pacientes divididos em quatro grupos: G1: pacientes sem SM que não estavam usando terapia antirretroviral (ARV); G2: pacientes sem SM usando ARV; G3: pacientes com SM que não estavam usando ARV; G4: pacientes com SM usando ARV. Foram avaliados parâmetros bioquímicos como dosagem de adiponectina, ácido úrico (AU), perfil lipídico, glicose, insulina e o modelo da homeostase de avaliação da resistência à insulina (HOMA-IR); parâmetros imunológicos como contagem de células T CD45⁺, T CD3⁺, T CD4⁺ e T CD8⁺, parâmetros virológicos como quantificação da carga viral de RNA-HIV-1 e marcadores de estresse oxidativo, como peroxidação lipídica, produtos avançados de oxidação protéica (AOPP) e capacidade antioxidante total do plasma (TRAP). Os resultados mostraram que os pacientes do G4 exibiram níveis mais elevados de lipoperóxidos do que os do G1 ($p < 0,0001$) e níveis mais elevados de AOPP do que os do G2 e G1 ($p < 0,0001$). Os pacientes do G3 também apresentaram maior AOPP do que os do G2 ($p < 0,05$) e os do G4 mostraram menores níveis de adiponectina quando comparados com os do G2 ou G1 ($p < 0,0001$). Da mesma forma, os pacientes do G3 apresentaram menores níveis de adiponectina do que os do G2 ($p < 0,05$) e G1 ($p < 0,0001$). A análise multivariada mostrou que o aumento da AOPP e a diminuição da relação do TRAP/AU foram independentemente associados com SM em pacientes infectados pelo HIV-1. Quanto aos marcadores da progressão da doença e da replicação viral analisados, pacientes do G4 exibiram significativamente maior contagem de células T CD45⁺, T CD3⁺ e T CD4⁺ do que os do G2 ($p < 0,01$). Os

dados permitem concluir que pacientes infectados pelo HIV-1 com SM exibiram hipoadiponectinemia e aumento do estresse oxidativo e que estas alterações não foram influenciadas pelo uso de ARV. Os resultados sugerem que a SM e o estresse oxidativo podem ser importantes fatores envolvidos no desenvolvimento das características laboratoriais dos pacientes infectados pelo HIV. Mais estudos são necessários para se verificar propostas de intervenções, como dietas individualizadas e/ou suplementação com nutrientes que poderiam aumentar os níveis de adiponectina e diminuir o nível de estresse oxidativo e nitrosativo e, conseqüentemente, reduzir as complicações relacionadas à SM (de riscos cardiovasculares, diabetes e disfunção lipídica) e progressão da doença.

Palavras-chaves: HIV-1. Síndrome metabólica. Estresse oxidativo. Adiponectina. Antirretrovirais. AOPP. TRAP.

MORIMOTO, Helena Kaminami. **Evaluation of metabolic changes, adiponectin, and oxidative stress in patients infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)**. 2015. 77 p. Thesis (Doctoral degree in Health Sciences) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

ABSTRACT

Oxidative stress is a condition characterized by the imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS), reactive nitrogen species (RNS) and their neutralization by the antioxidant defenses, leading to the accumulation of ROS, RNS, and their derived metabolites, with changes in the redox status of the cell. These ROS and RNS can act on biological components and induce the oxidative and nitrosative reactions on lipids, proteins, and nucleic acids. A wide variety of chronic diseases presents oxidative stress as a part of their pathogenesis, including the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection. The relationship between oxidative stress and HIV-1 infection lays in the fact that the ROS and RNS are important components in several events of the innate and adaptive immune responses. On the other hand, studies have shown specific role for oxidative-driven events in both the host immunity and the virus biology. The occurrence of oxidative stress in HIV-1-infected patients has been implicated in disease progression, as well as in developing other secondary disorders, such as cardiovascular diseases, insulin resistance, and metabolic syndrome (MS). The aim of this study was to evaluate the role of MS and oxidative stress in patients infected with HIV-1 and to characterize the events of the redox state and their clinical implications in the characteristics of the disease. The study included 285 patients divided into four groups: G1: patients without MS who were not using antiretroviral therapy (ART); G2: patients without MS using ARV; G3: patients with MS who were not using ART; G4: patients with MS using ART. Were evaluated biochemical parameters, such as plasma levels of adiponectin, uric acid (UA), lipid profile, glucose, insulin, and homeostatic model of assessment of insulin resistance (HOMA-IR); immunological parameters, such as CD45⁺, CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺ T cell counts; viral load of RNA-HIV-1, and oxidative stress parameters, such as lipoperoxidation, advanced oxidated protein products (AOPP), and total radical trapping antioxidant parameter (TRAP). The results demonstrated that G4 patients exhibited higher levels of lipoperoxide than G1 patients ($p < 0.0001$) and higher AOPP than G2 or G1 patients ($p < 0.0001$). The G3 patients also showed higher AOPP than the G2 ($p < 0.05$) and G4 showed lower levels of adiponectin compared to G2 or G1 patients ($p < 0.0001$). Likewise, G3 patients showed lower levels of adiponectin compared to G2 ($p < 0.05$) and G1 patients ($p < 0.0001$). Multivariate analysis showed that both increased AOPP and decreased TRAP/UA ratio were independently associated with MS in patients infected with HIV-1. Regarding the markers of disease progression and viral replication analyzed, G4 patients exhibited significantly higher CD45⁺ CD3⁺ and CD4⁺T cell counts when compared to G2 patients ($p < 0.01$). The data show that patients infected with HIV-1 with MS exhibited hypoadiponectinemia and increased oxidative stress and these changes were not influenced by the use of ART. The results suggest that MS and oxidative stress can be important factors involved in the development of laboratory characteristics of HIV-infected patients. More studies are

needed to determine whether new interventions approaches, such as individualized diet and /or supplementation with nutrients that could increase adiponectin levels and decrease the level of oxidative and nitrosative stress and, therefore, reduce complications related to MS (cardiovascular risk, diabetes and lipid dysfunction) and disease progression.

Keywords: HIV-1. Metabolic syndrome. Oxidative stress. Adiponectin. Antiretroviral agents. AOPP. TRAP.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fisiopatologia da doença cardiovascular em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana.....	39
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CRABP-1	Proteína de ligação do ácido retinóico celular
$\cdot\text{OH}$	Radical hidroxila
AACE	<i>American Association of Clinical Endocrinology</i>
ABAP	Dicloridrato 2,2'-azobis-2-metilpropanoamida
AHA/NHLBI	<i>American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute</i>
Aids	Síndrome da imunodeficiência humana
AOPP	<i>Advanced Oxidation Protein Products</i> (Produtos avançados de oxidação protéica)
ARVs	Antirretrovirais
ARV/ART	Terapia antirretroviral
AU	Ácido úrico
cGMP	Guanosina monofosfato cíclico
CL-LOOH	Hidroperóxidos lipídicos iniciados por t-butil avaliados por quimioluminescência
Cm	Centímetro
CPM	Contagens por minuto
CRABP-1	<i>Cellular retinoic acid-binding protein 1</i> (Proteína de ligação do ácido retinóico celular tipo 1)
CV	Carga viral
DCV	Doenças cardiovasculares
DL	Decilitro
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNA polimerase	Polimerase do ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EGIR	<i>European Group for the Study of Insulin Resistance</i>
ELISA	Enzimaimunoensaio
EO/EN	Estresse Oxidativo e Nitrosativo
EOS	Estresse oxidativo
ER	Espécies reativas
ERN	Espécie reativa de nitrogênio

ERO	Espécie reativa de oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
gp120	Glicoproteína do envelope 120
FFA	Ácidos graxos livres
F VII	Fator VII
GSH	Glutathiona
HAART	<i>Highly active antirretroviral therapy</i> (Terapia antirretroviral de alta potência)
HDL-C/HDLc	<i>High-density lipoprotein cholesterol</i> (Colesterol de lipoproteína de alta densidade)
HIV-1	<i>Human immunodeficiency virus type 1</i> (Vírus da imunodeficiência humana tipo 1)
HNE	4-hydroxy-2-nonenal
HNO ₂	Ácido nitroso
HO ₂ [•]	Hidridodioxigênio
HOMA-IR	<i>Homeostatic Model Assessment of Resistance Insulin Resistance</i> (Modelo da homeostase de avaliação da resistência à insulina)
HPLC	<i>High performance lipid chromatography</i> (Cromatografia líquida de alta performance)
hs-CRP	Proteína C reativa de alta sensibilidade
HTLV	<i>Human T-cell lymphotropic leukemia vírus</i> (Vírus linfotrópico de células T humanas)
IDF	<i>The International Diabetes Federation</i>
IFN- γ	Interferon gama
IFN- α 2b	Interferon alfa-2b
IL-1	Interleucina 1
IL-10	Interleucina 10
IL-11	Interleucina 11
IL-13	Interleucina 13
IL-17	Interleucina 17
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6

IMC	Índice de massa corpórea
iNOS	Enzima óxido nítrico sintetase induzível
IP	Inibidor de protease
ITRN	Inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo
ITRNN	Inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo
Kg	Quilograma
L [•]	Radical lipídico
LAV	<i>Lymphadenopathy Associated Virus</i> (Vírus associado a linfadenopatia)
LDL-C	<i>Low-density lipoprotein cholesterol</i> (Colesterol de lipoproteína de baixa densidade)
LDLR	<i>Low-density lipoprotein receptor</i> (Receptor de lipoproteína de baixa densidade)
LOO [•]	Radical peroxil lipídico
LPL	Lipase lipoprotéica
LPO	<i>Lipid peroxidation</i> (Peroxidação lipídica)
LPS	Lipopolissacarídeos
LRP	<i>Protein related to low-density lipoprotein receptor</i> (Proteína relacionada ao receptor de lipoproteína de baixa densidade)
m	Metro
MDA	Malondialdeído
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mtNOS	Isoforma mitocondrial da óxido nítrico sintetase
N ₂ O ₃	Óxido nítrico
NAC	N-acetilcisteína
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NCEP:ATPIII	<i>National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III</i>
NO [•]	<i>Nitric oxide</i> (Óxido nítrico)
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO ₃	Nitrato
NOS1	Isoforma neuronal da óxido nítrico sintetase
NOS2	Isoforma induzida da óxido nítrico sintetase

NOS3	Isoforma endotelial constitutiva da óxido nítrico sintetase
NOx	Metabólitos do óxido nítrico
O ₂	Oxigênio
O ₂ [•]	Superóxido
OMS	Organização Mundial de Saúde
ONOO-	Peroxinitrito
PAI-1	Inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1
PCR	Proteína C reativa
PPAR-γ	<u><i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i></u> (Receptor gama de proliferador de peroxissoma ativado)
PUFAs	<i>Polyunsaturated fatty acids</i> (Ácidos graxos poli-insaturados)
QL	Quimioluminescência
RAS	Sistema renina angiotensina
REDOX	Estado de oxidação e redução
RI	Resistência a insulina
RNA	Ácido ribonucleico
RO [•]	Radical alcoxila
RO ₂ [•]	Radical Peroxil
sCD14	CD14 solúvel
sCD163	CD163 solúvel
SM	Síndrome metabólica
SNC	Sistema nervoso central
SOD	Enzima superóxido dismutase
SREBP-1c	<i>Sterol regulatory element-binding protein 1c</i> (Proteína de ligação de elementos regulatórios de esteroides tipo 1c)
sTNFR	<i>Soluble tumor necrosis factor receptor</i> (Receptor solúvel do fator de necrose tumoral)
SUS	Sistema Único de Saúde
Tat	Gene <i>Ttransativador de replicação viral</i>
Tat	Proteína transativadora de replicação viral
TBARS	<i>Thiobarbituric acid reactive substance</i> (substância reativa ao ácido tiobarbitúrico)
TG	Triglicerídeos

TGF- β	<i>Transforming growth factor beta</i> (Fator de transformação do crescimento beta)
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor alpha</i> (Fator de necrose tumoral alfa)
TRAP	<i>Total radical trapping antioxidant parameter</i> (Capacidade antioxidante total do plasma)
TRX	Tioredoxina
VCAM-1	Molécula de adesão de células vasculares tipo 1
VLDL	<i>Very low-density lipoprotein</i> (Lipoproteína de densidade muito baixa)
Vpr	Proteína viral R
WHO	<i>World Health Organization</i> (Organização Mundial da Saúde)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	Vírus da imunodeficiência humana e terapia antirretroviral	17
1.2	Patogênese do HIV	21
1.3	Estresse oxidativo e nitrosativo (EO/EN)	22
1.3.1	Conceito	22
1.3.2	Biomarcadores do estresse oxidativo e nitrosativo	24
1.3.2.1	Biomarcadores de peroxidação lipídica	
1.3.2.2	Biomarcadores de oxidação protéica	27
1.3.2.3	Biomarcadores das espécies reativas de nitrogênio	28
1.3.2.4	Biomarcadores de defesas antioxidantes	28
1.4	Estresse oxidativo e infecção pelo HIV	30
1.5	Síndrome metabólica	35
1.5.1	Conceito	35
1.5.2	Síndrome metabólica e infecção pelo HIV	36
1.6	Estresse oxidativo e níveis de adiponectina na SM	40
2	JUSTIFICATIVA	41
3	OBJETIVOS	41
3.1	Objetivo geral	41
3.2	Objetivos específicos	42
3.2.1.	Determinar as características demográficas, antropométricas, clínicas e laboratoriais de pacientes infectados pelo HIV-1 com ou sem SM, usando ou não a terapia ARV;	42
3.2.2	Avaliar os marcadores do EO em pacientes infectados pelo HIV-1 com ou sem SM usando ou não a terapia ARV;.....	42
3.2.3	Avaliar os marcadores laboratoriais da progressão da infecção em pacientes infectados pelo HIV-1 com ou sem SM, usando ou não a terapia ARV;	42
3.2.4	Descrever os mecanismos do estado redox e suas implicações clínicas em pacientes infectados pelo HIV-1 e AIDS.....	42

4	CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS	42
4.1	Aspectos éticos	42
4.2	Delineamento	42
4.3	População	42
4.4	Cálculo Amostral	43
4.5	Amostra	43
4.6	CrITÉrios de Definição de Síndrome Metabólica	44
4.7	Determinações Antropométricas e Aferição da Pressão Arterial	44
4.8	Marcadores Laboratoriais	44
4.9	Contagem de Linfócitos T	45
4.10	Determinação da Carga Viral Plasmática de RNA-HIV-1	45
4.11	Avaliação do Estresse Oxidativo	45
4.11.1	Determinação de hidroperóxidos lipídicos iniciados por t-butil (CL-LOOH)	46
4.11.2	Capacidade antioxidante total do plasma (total radical trapping antioxidant parameter/ TRAP)	46
4.11.3	Determinação de produtos avançados de oxidação protéica (AOPP)	47
4.12	Análise Estatística	47
5	RESULTADOS	48
5.1	Artigo 1: Role of metabolic syndrome and antiretroviral therapy in adiponectin levels and oxidative stress in HIV-1 infected patients	49
5.2	Artigo 2: Redox-Driven Events in the Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Infection and Their Clinical Implications	56
6	CONCLUSÕES	64
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	64

REFERÊNCIAS	66
APÊNDICES	74
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	74
APÊNDICE B – Questionário	75
ANEXO	76
ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos	76

1 INTRODUÇÃO

1.1 Vírus da imunodeficiência humana e terapia antirretroviral

A descoberta da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) ocorreu em meados de 1981, nos Estados Unidos da América (EUA), a partir da identificação de um número elevado de pacientes adultos do sexo masculino, homossexuais e moradores dos estados da Califórnia e da cidade de Nova York, que apresentavam sarcoma de Kaposi e pneumonia por *Pneumocystis carinii* (atualmente denominado *Pneumocystis jiroveci*) (CDC, 1981a; CDC, 1981b). Em 1982, tornou-se evidente o surgimento de uma nova doença caracterizada por uma imunodeficiência grave, de transmissão sexual, denominada síndrome da imunodeficiência adquirida (aids). Indivíduos com esta síndrome apresentavam depleção de linfócitos T CD4⁺ com consequente aumento da susceptibilidade a doenças infecciosas, hipergamaglobulinemia policlonal, resposta reduzida a antígenos em testes cutâneos de sensibilização, complicações neurológicas e aumento de incidência de linfoma e do sarcoma de Kaposi (GOTTLIEB et al., 1981; NAVIA et al., 1986; FARTHING, et al., 1989).

Em 1983, Luc Montagnier e sua equipe, no Instituto Pasteur de Paris, França, isolaram um novo retrovírus humano em amostra de nódulo linfático de um paciente homossexual com linfadenopatia generalizada e persistente (BARRÉ-SINOUSI et al., 1983), sendo denominado de *Lymphadenopathy Associated Virus* (LAV). Quase simultaneamente, o grupo de pesquisadores liderado por Robert Gallo, no Instituto Nacional do Câncer, nos EUA, isolou o mesmo retrovírus de pacientes com aids e denominou de *Human T-cell lymphotropic virus type III* (HTLV-III) (GALLO et al, 1983). O Comitê Internacional para Taxonomia de Vírus recomendou que os retrovírus isolados e identificados como os causadores da aids fossem renomeados como *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) (COFFIN et al, 1986). Em 1986, foi identificado um segundo agente etiológico, também retrovírus, com características semelhantes ao HIV e foi denominado vírus da imunodeficiência humana tipo 2 (HIV-2) (CLAVEL et al., 1986) e o HIV inicialmente descoberto, foi denominado de HIV-1. O novo vírus HIV-2 associado à aids foi detectado em Lisboa, Portugal, em indivíduos procedentes de Guiné-Bissao, Cabo Verde e em pacientes provenientes do oeste africano (CLAVEL et al., 1987). Em junho de 1987, o HIV-2 foi detectado pela primeira vez nas Américas, na cidade de São Paulo, Brasil (VERONESI et al., 1987).

Ao longo dos anos 80, a doença rapidamente se configurou como uma pandemia, tornando-se um dos mais graves problemas de saúde pública do século XX.

Desde o início da epidemia de aids, mais de 78 milhões de pessoas foram infectadas com o HIV-1 e 39 milhões já morreram (UNAIDS, 2014). Infecções novas têm diminuído em 38% desde 2001. Em todo mundo, 2,1 milhões de pessoas foram infectadas com HIV-1 em 2013, contra 3,4 milhões em 2001 (UNAIDS, 2014). No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, desde o início da epidemia, em 1980 a junho de 2011, foram notificados 608.230 casos de aids. Em 2010 foram notificados 34.218 novos casos, com taxa de incidência de 17,9 casos por 100 mil habitantes. Ao longo dos últimos 12 anos, observa-se uma estabilização da taxa de incidência no Brasil. No entanto, a incidência desta infecção varia segundo as regiões brasileiras, uma vez que diminuiu na Região Sudeste e aumentou nas demais regiões (BRASIL, 2012).

No final de 1999, a Organização Mundial de Saúde (OMS) contabilizava 34,3 milhões de pessoas infectadas pelo HIV-1 em todo o mundo (UNAIDS, 2000). Atualmente, a pandemia já conta com 35 milhões de pessoas (UNAIDS, 2014). No Brasil, a epidemia de aids é considerada estável e concentrada nas regiões mais populosas. Estima-se que existam 734 mil pessoas vivendo com o HIV/aids, correspondendo a uma prevalência de 0,4% (BRASIL, 2014). De 1980 (o início da epidemia) até dezembro de 2013, foram registrados 278.306 óbitos em decorrência da doença. Nos últimos cinco anos, o Brasil tem registrado uma média de 39,7 mil casos de aids. A distribuição do número de casos de pessoas vivendo com HIV/aids varia nas diferentes regiões do Brasil, sendo a região Sudeste com o maior percentual (42,8%), seguida da região Sul com 21,7%, região Nordeste com 19,9%, região Norte com 8,8% e região Centro-Oeste com 6,8% (BRASIL, 2014).

O Brasil foi um dos primeiros países em desenvolvimento a adotar políticas públicas de acesso universal e gratuito aos medicamentos antirretrovirais (ARVs) a todos os portadores do HIV-1 no Sistema Único de Saúde (SUS), a partir de 1996 (BRASIL, 2015). O acesso aos ARVs possibilitou a melhoria da qualidade de vida e o aumento da sobrevivência dos pacientes com HIV/aids, além de ajudar a reduzir a disseminação da epidemia. Atualmente, o SUS distribui 22 medicamentos para o tratamento dos indivíduos infectados pelo HIV-1, com investimento aproximado de R\$ 900 milhões. Para 2015, está previsto um investimento de R\$ 1 bilhão em medicamentos (BRASIL, 2015).

Em 2013, cerca de 12,9 milhões de pessoas vivendo com HIV/aids no mundo tiveram acesso à terapia com ARVs, o que representa cerca de 37% de todas as pessoas que vivem com o HIV; destes, 38% são adultos e 24% são crianças (UNAIDS, 2014). No Brasil, 355 mil pessoas vivendo com HIV/aids estavam em uso de terapia com ARVs, em 2013, 293 mil apresentaram supressão da carga viral (CV), com valor inferior a 1.000 cópias/mL e 255 mil possuíam CV indetectável (inferior a 50 cópias/mL) (BRASIL,

2014).

Em 1996, foi implantado o tratamento da infecção pelo HIV-1 com a terapia antirretroviral de alta potência ou HAART (*highly active antirretroviral therapy*), que consiste na associação de dois medicamentos inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN) e um medicamento inibidor de protease (IP) ou inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos (ITRNN). Com isto, após trinta anos de sua descoberta, a infecção pelo HIV-1 passou a ser considerada uma doença crônica, que se manejada e tratada de maneira adequada, diminui, consideravelmente, a probabilidade de adoecimento e morte das pessoas vivendo com HIV/aids (BRASIL, 2013, Van WIJK et al., 2012). A HAART mostrou-se eficaz na supressão da replicação do HIV-1 e alterou a história natural da infecção por este vírus (COHEN et al, 2010, IVES et al, 2001).

A adesão ao tratamento com ARVs e a boa resposta à terapia são fatores que têm contribuído para uma redução na morbidade e mortalidade e para o aumento da expectativa de vida e melhor prognóstico destes pacientes; além disso, demonstraram serem eficazes na diminuição da transmissão do vírus (COHEN et al. 2011, HOGG et al., 1999, DETESL et al., 1998, PALELLA et al., 1998). Trabalhos relatam que HAART foi responsável por 50% de declínio na mortalidade, diminuição da taxa de transmissão vertical, infecções oportunistas e incidência de demência associada ao HIV (BHASKARAN et al., 2008, TEDALDI et al., 2008, LOHSE et al., 2007, PARK et al., 2007).

Os ARVs são bem tolerados, a curto prazo; no entanto, são responsáveis por inúmeros efeitos adversos (RACHID et al., 2008). Estudos têm demonstrado que as duas principais complicações associadas aos ARVs são a síndrome lipodistrófica associada ao HIV-1 e as alterações metabólicas que afetam o metabolismo de lipídios e de carboidratos (INDUMATI et al., 2014, FARHI, et al., 2008, VALENTE et al., 2005; GOUGEON et al., 2004).

A síndrome lipodistrófica inclui alterações morfológicas do corpo, caracterizadas pela redistribuição da gordura, com perda de gordura nas extremidades, glúteos e face (lipoatrofia), com ou sem o acúmulo de gordura no abdômen devido a um aumento da gordura visceral, ou mais raramente, um aumento na quantidade de gordura no pescoço (giba) ou seios (ALVES et al, 2014, INDUMATI et al., 2014). Além destas alterações fenotípicas, uma grande proporção de pacientes desenvolve resistência à insulina (RI) e elevação na concentração plasmática de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (*low-density lipoprotein cholesterol*//LDL-C), colesterol total, triglicerídeos e lipoproteína de densidade muito baixa (*very low density lipoprotein*/VLDL) (INDUMATI et al., 2014). A combinação de hiperlipidemia, RI e acúmulo de gordura visceral se assemelha à síndrome metabólica (SM) e levantou a preocupação de que pacientes infectados pelo HIV-

1 tratados com ARVs podem estar em maior risco de desenvolver doença cardiovascular e diabetes (INDUMATI et al., 2014, Van WIJK et al., 2012, VALENTE et al., 2005, GOUGEON et al., 2004, KOTLER et al., 1999).

A etiologia da síndrome lipodistrófica e alterações metabólicas parece ser multifatorial, incluindo efeito inibitório dos ARVs sobre a diferenciação dos adipócitos, alteração das funções mitocondriais nos adipócitos e alteração na expressão de leptina, adiponectina e citocinas no tecido adiposo de pacientes infectados pelo HIV (Van WIJK et al., 2012, GOUGEON et al., 2004). Os mecanismos mais estudados incluem mudança na expressão da proteína de ligação do ácido retinóico celular tipo 1 (*Cellular retinoic acid-binding protein 1/CRABP-1*) e da proteína relacionada ao receptor de lipoproteína de baixa densidade (*low density lipoprotein-receptor-related protein/LRP*), desordens na proteína de ligação de elementos regulatórios de esteróides (*Sterol regulatory element-binding protein 1c/SREBP-1c*) e receptor gama de proliferador de peroxissoma ativado (*Peroxisome proliferator-activated receptor gamma/PPAR-γ*), interferência na glutatona (GSH), alteração nos níveis séricos de leptina e adiponectina e disfunção mitocondrial por meio da inibição da polimerase do ácido desoxirribonucleico (DNA polimerase) (ALVES et al., 2008, BASTARD et al., 2002, BRINKMAN et al., 1999, CARR et al., 1998).

Além da SM, evidências científicas têm comprovado que o estresse oxidativo (EO) desempenha um papel importante na progressão da infecção pelo HIV-1 (PERL, et al., 2000, PYO et al., 2008). Um desequilíbrio nos sistemas de defesa antioxidante e, conseqüentemente desequilíbrio redox, está presente em pacientes infectados com HIV-1 (SHARMA et al., 2014). Além disso, há evidências claras de que o EO pode contribuir para diversos aspectos da progressão da infecção pelo HIV-1, incluindo a replicação viral, resposta inflamatória, diminuição da proliferação de células imunes, perda da função imune, perda crônica de peso e aumento na sensibilidade à toxicidade da droga (AQUARO et al., 2007; revisado por REICHE et al., 2014).

Ainda não existe consenso para o tratamento dos componentes da SM e do EO em pacientes infectados pelo HIV-1, mas a detecção precoce destas alterações deveria fazer parte do acompanhamento clínico destes pacientes, propiciando a escolha de medidas terapêuticas mais eficazes e individualizadas que possibilitem a redução de riscos associados à doenças cardiovasculares (DCV), diabetes e disfunção lipídica (LUNDGRE et al., 2008).

1.2 Patogênese do HIV

A patogênese da infecção pelo HIV-1, em grande parte, é atribuível à diminuição do número de linfócitos T CD4⁺, principal alvo do vírus. Em pacientes não infectados, todos os dias, cerca de 5% das células T são destruídas por meio do processo apoptótico e substituídas (RESHI et al., 2014). Isto, por sua vez, leva à diminuição dos níveis séricos de zinco e vitamina E, que funcionam como antioxidantes e possibilitariam a inibição da replicação do vírus intracelular; do mesmo modo, a diminuição do selênio indica a progressão da infecção pelo HIV-1 para aids (RESHI et al, 2014, SPRIETSMA et al,1997).

O estado imunológico de uma criança ou adulto que vive com HIV-1 pode ser avaliado pela contagem do número absoluto (por mm³) ou da porcentagem de células T CD4⁺, um parâmetro considerado padrão para avaliar e caracterizar a gravidade da imunodeficiência relacionada com o HIV-1 (WHO, 2007). A progressiva diminuição das células T CD4⁺ resulta na desregulação do sistema imunológico que leva a uma falha no mecanismo de homeostasia do hospedeiro e na rede celular imune. Estas alterações estão associadas com a progressão da doença e uma maior probabilidade de infecções oportunistas e outras manifestações clínicas associadas ao vírus, incluindo debilitação progressiva e morte (OKOYE et al., 2013, WHO, 2007).

De modo típico, depois de sofrer a infecção primária, a maioria dos pacientes não apresenta quaisquer sintomas por até mais de 10 anos, durante os quais a CV declina sem que o vírus interrompa sua replicação (RESHI et al, 2014). Isto, por sua vez, leva a uma diminuição gradativa na contagem de células T CD4⁺ que conduz à aids, denominada como a fase terminal da infecção (RESHI et al., 2014).

Após o pico inicial de viremia, respostas imunes humoral e celular são detectadas e capazes de controlar parcialmente a replicação viral, com a observação de queda da viremia por várias ordens de grandeza, até atingir um nível de estado estacionário mais baixo. No entanto, estas respostas imunológicas não conseguem eliminar o vírus, levando a uma infecção crônica (FÉVRIER et al, 2011). Nessa fase, notam-se níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), elevação da proteína C reativa (PCR) e dímero D, havendo, também, aumento da produção e da destruição de linfócitos T CD4⁺ e de linfócitos B (CERRATO et al., 2015, BOULWARE et al., 2011, COHEN et al., 2011, BREEN et al., 2002). Ressalta-se que a ativação dos linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ é persistente e está associada tanto à presença do HIV-1 quanto a de outros fatores comuns em pessoas vivendo com HIV/aids, como replicação viral, estímulo provocado pela presença de outros patógenos como o citomegalovírus (CMV) e outros herpesvírus, translocação de

lipopolissacarídeos através da mucosa intestinal que se ligam ao CD14 solúvel, perda de células T imunoregulatórias e fibrose da infraestrutura linfóide (CERRATO et al., 2015, HEMKENS et al., 2014).

Recentemente, a inflamação e a disfunção endotelial associadas à infecção pelo HIV têm sido apontadas como fatores que contribuem para a elevação do DCV em pacientes vivendo com HIV/aids (CERRATO et al., 2015). Embora o papel dos ARVs na redução da inflamação e dos eventos cardiovasculares ainda não esteja claro, a capacidade de restaurar e expandir os linfócitos T CD4⁺ é menor entre pacientes que iniciam tratamento mais tardiamente (DEEKS et al., 2009). Nesse sentido, estima-se que o início mais precoce da terapia com ARVs e, portanto, em fases com maior capacidade de recuperação das células T, esteja inversamente relacionado ao desenvolvimento de complicações crônicas (DEEKS et al., 2009).

1.3 Estresse oxidativo e nitrosativo (EO/EN)

1.3.1 Conceito

Estresse oxidativo e nitrosativo ocorre quando há uma mudança no equilíbrio entre a produção de radicais livres ou espécie reativa de oxigênio (ERO) e espécie reativa de nitrogênio (ERN) e a sua neutralização por defesas antioxidantes, levando ao acúmulo de ERO e ERN e seus metabólitos derivados, com alterações no estado de oxidação e redução (redox) da célula (DALLE-DONNE et al., 2006, YOSHIKAWA et al., 2002). Uma das principais consequências do EO/EN é o dano às bases do ácido nucléico, lipídios e proteínas, o que pode comprometer gravemente a viabilidade das células ou induzir uma variedade de respostas celulares por meio da geração de espécies reativas (ER) secundárias, levando à morte celular por necrose ou apoptose (RESHI et al., 2014, CIRCU et al., 2010). O dano oxidativo de qualquer uma destas biomoléculas, se não for controlado, pode contribuir para o desenvolvimento de doenças; sendo assim, para evitar o processo lesivo, as células e tecidos dos seres vivos possuem abundância de sistemas antioxidantes para neutralizar ou eliminar as ERO e ERN. Estes sistemas incluem enzimas antioxidantes, como a catalase, superóxido dismutase (SOD), GSH peroxidase e GSH redutase, bem como compostos de baixo peso molecular não enzimáticos, tais como vitamina C, vitamina E, GSH e ácido úrico (AU) (CASTEGNA et al., 2003). Sob circunstâncias fisiológicas, há um equilíbrio entre a formação e a neutralização de ERO e ERN para que haja modificação mínima de biomoléculas (DALLE-DONNE et al., 2006; SHACTER, 2000).

O conceito de EO foi primeiramente explorado por Denham Harman, em 1956, no processo de envelhecimento (HARMAN, 1956), o que desencadeou intensas pesquisas sobre EO em sistemas biológicos. Uma segunda fase se deu em 1969 quando McCord e Fridovich (1969) descobriram a enzima SOD e, assim, forneceram evidências sobre a importância do EO em sistemas vivos. Uma terceira fase remonta em 1977, quando Mittal e Murad forneceram evidências de que o íon superóxido (O_2^{\bullet}) e peróxido de hidrogênio levam à formação de radical hidroxila ($^{\bullet}OH$) que estimula a ativação de guanilato ciclase e a formação de um segundo mensageiro, a guanosina monofosfato cíclico (cGMP) (MITTAL, et al., 1977). Desde então, pesquisas têm-se acumulando, o que tornaram possível o esclarecimento de diversos mecanismos e funções biológicas dos seres vivos.

Durante o metabolismo celular aeróbico ou a exposição a fatores ambientais, é produzida uma série de subprodutos eletricamente instáveis, capazes de existir independentemente, que contenham um ou mais elétrons desemparelhados na última camada orbital e encontram-se centrados nos átomos de oxigênio ou nitrogênio (HALLIWELL, 1987).

Em sistemas biológicos, a principal fonte de EO são as mitocôndrias, mas pode também ser produzido nas membranas celulares e no citoplasma (BARBOSA et al., 2010; CIRCU et al., 2010). Os organismos aeróbicos metabolizam 85 a 90% do oxigênio (O_2) consumido na mitocôndria para gerar energia e água necessárias para a vida, por meio da cadeia transportadora de elétrons (KRISHNAMURTHY et al., 2012). O restante, 5%, é utilizado por diversas enzimas oxidoredutases (NADPH oxidase, xantina oxidase, glicose oxidase, mieloperoxidase, citocromo P450) e oxigenases (cicloxigenase e lipoxigenase) e, ainda, por reações químicas de oxidação direta, que irão produzir as ERO (KRISHNAMURTHY et al., 2012, STEINBRENNER et al., 2009, SHACTER, 2000). Os principais grupamentos radicalares derivados do O_2 são os radicais $^{\bullet}OH$, O_2^{\bullet} , peróxil (RO_2^{\bullet}) e alcóxila (RO^{\bullet}) e os não radicalares são O_2 , peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso (BIRBEN, et al., 2012).

ERN são geradas a partir de reações inflamatórias, principalmente em consequência da redução da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) pela enzima óxido nítrico sintetase induzível (iNOS) (HENSLEY et al., 2000). Óxido nítrico (NO^{\bullet}) representa um componente importante da resposta imune inata do hospedeiro contra infecções causadas por vírus DNA e RNA, incluindo infecção pelo HIV-1 (MANNICK et al., 1995). Tipicamente, o NO^{\bullet} é produzido pelos macrófagos, pela micróglia no sistema nervoso central (SNC) e ou pelas células endoteliais. A enzima iNOS catalisa a conversão do aminoácido L-arginina em citrulina mais o radical NO^{\bullet} (HENSELY et al., 2003, HALLIWELL, 2001, HENSLEY et al., 2000, PATEL et al., 1999). A importância desta enzima na fisiologia

é ressaltada pelo fato de que existem várias isoformas de iNOS, incluindo uma isoforma endotelial constitutiva (NOS3), uma isoforma induzida (NOS2) que se expressa em vários tipos de células em resposta a estímulos pró-inflamatórios e produz grandes quantidades de NO^{*}, uma isoforma neuronal (NOS1) e uma isoforma mitocondrial (mtNOS) (PATEL et al, 1999, GHAFOURIFAR, 1997). A expressão de iNOS é aumentada por EO ou citocinas pró-inflamatórias (NATHAN, 1997). Assim, a IL-1 beta (IL-1 β), IL-6, interferon alfa-2b (IFN- α 2b), interferon gama (IFN- γ) e interleucina 17 (IL-17) induzem iNOS, enquanto que fator de transformação do crescimento beta (TGF- β), interleucina 4 (IL-4), interleucina 10 (IL-10), interleucina 11 (IL-11) e interleucina 13 (IL-13) suprimem a indução de NO^{*} liberado a partir de macrófagos (TORRE et al., 2002). Em adição, o HIV-1 também estimula a produção de NO^{*} por macrófagos humanos, na medida em que a concentração da glicoproteína do envelope 120 (gp120) recombinante aumenta *in vitro* (PIETRAFORTE et al., 1994). O NO^{*} tem várias funções, entre as quais colaborar na regulação da pressão sanguínea, inibir a agregação plaquetária, agir como neurotransmissor, estar envolvido na morte intracelular de parasitas por macrófagos e exercer função tumoricida e antimicrobiana *in vivo* e *in vitro* (RADI, 2004, TORRE et al., 2002, HALLIWELL, 2001).

Outras ERN são o óxido nitroso (N₂O₃), ácido nitroso (HNO₂), nitritos (NO₂⁻), nitratos (NO₃) e peroxinitritos (ONOO⁻) (BIRBEN, et al., 2012). As ER são potencialmente reativas com moléculas biológicas capazes de causar oxidação e, dependendo da concentração, podem ter função benéfica ou prejudicial para as células e tecidos (CIRCU et al, 2010). Em níveis baixos ou moderados, as ER funcionam em processos fisiológicos celulares com importante papel na sinalização intracelular e regulação de ação hormonal, fatores de crescimento, citocinas, transcrição, apoptose, transporte de ferro, indução de respostas mitogênicas, imunomodulação, neuroimunomodulação e em defesas contra agentes infecciosos (CIRCU et al, 2010; VALKO et al., 2007; GLOIRE et al., 2006; VALKO et al., 2006; POLI et. al, 2004; LANDER et al, 1997), enquanto que o excesso das ER induz à modificação oxidativa de macromoléculas celulares, tais como lipídios, carboidratos, proteínas e ácido desoxirribonucléico (DNA) alterando a sua função (CIRCU et al, 2010; VALKO et al., 2006; KELLY et al., 2003; MARNETT, 1999; GIROTTI, 1985).

1.3.2 Biomarcadores do estresse oxidativo e nitrosativo

Os biomarcadores são definidos como parâmetros que podem ser objetivamente mensurados e avaliados como indicadores de processos biológicos normais, processos patológicos ou respostas farmacológicas para uma intervenção terapêutica (DALLE-DONNE et al., 2006). Vários marcadores *in vitro* de EO/EN estão disponíveis,

incluindo as próprias ERO e ERN. A maioria dos resultados tem valores limitados *in vivo* devido a especificidade limitada para o produto de oxidação/nitrosação; o analito a ser mensurado não é um produto específico da ERO/ERN; a falta de sensibilidade em detectar concentrações do produto em indivíduos saudáveis, não permitindo a definição de um intervalo de valores de referência; as concentrações do produto mensurado poderem ser influenciadas por fatores externos, tais como o teor de lipídios da dieta; ou o ensaio ser muito invasivo para investigações *in vivo* em seres humanos (DALLE-DONNE et al., 2006).

Embora algumas ERO/ERN terem sido diretamente detectadas *in vitro* por espectrometria [cromatografia líquida de alta performance (*high performance liquid chromatography*/HPLC), espectroscopia magnética de ressonância com rotação de elétron], imunquímica [quimioluminescência (QL), fluometria] ou por citometria de fluxo, esses métodos de detecção direta ainda não são aplicáveis para exames clínicos devido à instabilidade de muitas ER e a necessidade de equipamento de alto custo (DALLE-DONNE et al., 2006; CHRISTOV et al., 2003). Além disso, ERO/ERN são geralmente muito reativas e/ou têm meia-vida muito curta que varia de nanossegundos para o radical hidroxil e segundos para o NO[•] e radical peroxil (BUTTERFIELD et al., 1997). Devido às diferenças na meia-vida, a reatividade das ERO/ERN difere do meio ambiente aquoso na qual elas foram formadas para reação no interior da membrana e de difícil mensuração direta em células, tecidos ou fluidos corporais. Em contrapartida, lipídios, proteínas, carboidratos e ácidos nucléicos, após serem modificados pelas ER, têm um tempo de meia vida maior, o que os tornam marcadores ideais de EO. Dentre estes marcadores encontramos as proteínas carbonílicas, malondialdeído (MDA) e metabólitos do NO[•] como o nitrito (DALLE-DONNE et al., 2006, POCERNICH et al., 2005).

A medida da capacidade antioxidante considera a ação cumulativa de todos os antioxidantes presentes (conhecidos e desconhecidos) e sua interação sinérgica nos fluidos corporais e plasma, proporcionando assim um parâmetro integrado e não a simples soma de antioxidantes mensuráveis, possibilitando uma visão sobre o delicado equilíbrio *in vivo* entre oxidantes e antioxidantes (GHISELLI et al, 2000). Esta medida pode ajudar na avaliação de fatores fisiológicos, ambientais e nutricionais do estado redox em seres humanos e contribui para a identificação das condições que afetam o estado oxidativo *in vivo* (por exemplo, a exposição a ERO e suplementação com antioxidantes). Além disso, as mudanças na capacidade oxidativa no plasma após a suplementação com antioxidantes ou com alimentos ricos em antioxidantes podem fornecer informações sobre a absorção e biodisponibilidade de compostos nutricionais (GHISELLI et al, 2000). É útil registrar que o decréscimo da capacidade antioxidante não significa necessariamente que o dano oxidativo ocorreu mas pode significar, simplesmente, que o mecanismo de defesa cumpriu sua função

habitual (HALLIWELL et al., 2007).

Significativos avanços metodológicos têm sido alcançados desde o desenvolvimento do teste denominado de substância reativa ao ácido tiobarbitúrico (*thiobarbituric acid reactive substance/TBARS*) que usa o ácido tiobarbitúrico como reagente, e ensaios carbonílicos, que são amplamente usados desde 1980 e 1990 para avaliar o dano oxidativo (YEUM et al., 2011). O padrão ouro para detectar os estados de dano oxidativo e defesa antioxidante ainda não estão definidos (YEUM et al., 2011).

Os biomarcadores de EO podem ser classificados em métodos diretos que avaliam os produtos de oxidação envolvendo substratos, tais como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, e métodos indiretos que avaliam o estado antioxidante por meio de análise de níveis endógenos de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, bem como a resistência da matriz biológica em induzir EO (YEUM et al., 2011).

1.3.2.1 Biomarcadores de peroxidação lipídica

As membranas celulares contêm quantidades significativas de ácidos graxos poliinsaturados (*polyunsaturated fatty acids/PUFAs*) que são esterificados em fosfolipídios e colesterol livre. Estes lipídios são alvos primários para o ataque dos radicais livres levando a peroxidação lipídica (LPO) e causando um impacto profundo sobre a biologia dos sistemas vivos (YIN et al., 2011).

A peroxidação lipídica pode ser descrita como uma cascata de eventos bioquímicos na qual oxidantes, tais como radical livre e espécies não radicalares, atacam lipídios que contêm ligações duplas de carbono-carbono (YIN et al., 2011). A fase inicial consiste na retirada do hidrogênio formando um radical lipídico centrado no carbono (L^{\bullet}). Na fase de propagação, o radical lipídico (L^{\bullet}) rapidamente reage com o O_2 formando o radical peróxil lipídico (LOO^{\bullet}) que retira um hidrogênio de outra molécula de lipídio gerando um novo (L^{\bullet}) e hidroperóxido lipídico, levando à quebra da homeostasia celular ou em alguns casos, interação com macromoléculas resultando em morte celular (FRITZ et al, 2013, YIN et al., 2011).

A deterioração oxidativa dos PUFAs e sua mensuração laboratorial é uma ferramenta para determinar o EO. Peróxidos e aldeídos gerados não são apenas marcadores passivos de EO, mas também produtos citotóxicos. LPO produz grandes quantidades de aldeídos, tais como MDA, 4-hydroxy-2-nonenal (HNE) e acroleína e conduz à formação de isoprostanos (BUTTERFIELD et al., 2002). O HNE e acroleína contribuem para o dano da membrana e morte celular induzida por vários produtos oxidativos e, por meio de alterações da estrutura da proteína, estas moléculas são capazes de inibir o DNA, o

ácido ribonucléico (RNA), a síntese de proteínas, a glicólise e degradação de enzimas (POCERNICK et al., 2005).

Os níveis plasmáticos de hidroperóxidos são avaliados por diferentes métodos, incluindo terc-butil-hidroperóxido iniciado por QL (CL-LOOH), com os resultados expressos em contagens por minuto (cpm), como descrito anteriormente (GONZALES-FLECHA et al., 1991). Terc-butil hidroperóxido é um hidroperóxido orgânico de cadeia curta que contém um grupo butil terciário e um grupo hidridodioxigênio (HO_2^*), cuja fórmula molecular é $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$ e é comumente utilizado como agente oxidante (produz radical alcóxil) para avaliar os mecanismos de alterações celulares do EO nas células, tecidos e fluidos biológicos (AYALA et al., 2014, KUCERA et al., 2014).

CL-LOOH, quando avaliado na amostra de plasma por um método de QL, é altamente sensível que permite a quantificação dos níveis muito baixos de peróxidos lipídicos pré-formados *in vivo*, e fornece também, informações sobre as defesas não enzimáticas com base no aumento da emissão de fóton causada pelo EO previamente sofrido pelas células (LOZOVY et al. 2011). Este teste é um método sensível que leva em conta a análise cinética da parte ascendente da curva e de emissão sob a suposição de que a variação de valores de velocidade inicial depende do nível das defesas antioxidantes pré-existent e reflete o aumento de hidroperóxidos lipídicos originados de fosfolipídios, colesterol ésteres, proteínas e oxidação de ácidos graxos livres e diminuição dos níveis de antioxidantes, causada pela ação contra radicais livres, principalmente em partículas de lipoproteínas plasmáticas (PANIS et al., 2011).

1.3.2.2 Biomarcadores de oxidação protéica

O EO aumenta os níveis de oxidação de proteínas que podem conduzir a uma grande variedade de modificações de aminoácidos. Pela ação de oxidantes clorados, principalmente o ácido hipocloroso e cloraminas produzidos pelos neutrófilos ativados sob ação da mieloperoxidase, ocorre a formação de ditirosina contendo produtos de proteína de ligação cruzada conhecidos como produtos avançados de oxidação protéica (*Advanced Oxidation Protein Products/AOPP*) que são detectados por espectrofotometria e este ensaio é considerado como um marcador biológico confiável para estimar o grau de modificações oxidativas de proteínas (WITKO-SARSAT et al., 1996).

A AOPP foi descoberta e relatada por Witko-Sarsat e colaboradores, em 1996, em pacientes urêmicos (WITKO-SARSAT et al., 1996) e, posteriormente, foi associada à diabetes (PIWOWAR et al., 2009; MARTÍN-GALLÁN et al, 2003). Estudos demonstraram que o acúmulo crônico de AOPP promove a inflamação e aumenta o EO em

rins de pacientes diabéticos e pode contribuir para o desenvolvimento e/ou progressão da nefropatia diabética (SHI et al., 2008).

1.3.2.3 Biomarcadores das espécies reativas de nitrogênio

Trabalhos demonstram que, embora a produção de NO[•] possa estar aumentada pela iNOS, a biodisponibilidade de NO[•] pode ser prejudicada devido ao consumo de NO[•] na reação com ânion superóxido produzindo um oxidante, o peroxinitrito, que por sua vez acelera a reação de LPO (LI et al, 2007; TAO et al, 2007). A produção de peroxinitrito é confirmada pelos níveis elevados de nitrotirosina, um marcador de geração endógena de peroxinitrito, encontrado em modelos humanos e animais (YAMAGUCHI et al., 2006).

Por ser um radical muito instável, com uma meia-vida de apenas alguns segundos e rapidamente oxidado pelo O₂ tecidual para os produtos finais estáveis, nitrito e nitrato, é difícil de quantificar os níveis de NO[•] no tecido, de modo direto e em tempo real. O NO[•] pode ser avaliado por vários métodos, incluindo a avaliação de níveis de metabólitos de NO[•] (NO_x). Geralmente, os níveis séricos de NO[•] são avaliados com base na concentração de nitrito e nitrato de acordo com a reação de Griess, que consiste na redução enzimática do nitrato em nitrito com cádmio (GUEVARA et al, 1998; NAVARRO-GONZALES et al, 1998). O acompanhamento dos níveis de nitrito/nitrato em tecido ou plasma humano pode ser uma ferramenta importante para compreendermos o envolvimento do NO[•] na infecção pelo vírus HIV.

1.3.2.4 Biomarcadores de defesas antioxidantes

A Capacidade Antioxidante Total do Plasma (*Total Radical Trapping Antioxidant Parameter*, TRAP) foi proposta, inicialmente, por Wayner et al., em 1985, e tem sido o método mais utilizado para avaliar a capacidade antioxidante (WAYNER et al., 1985). O ensaio detecta antioxidantes hidro e lipossolúveis presentes no plasma, por meio de QL (REPETTO et al., 1996). Baseia-se no princípio da adição de um azoiniciador ao plasma, o dicloridrato 2,2'-azobis-2-metilpropanoamida (ABAP), substância hidrossolúvel capaz de gerar radical livre (YEUM et al., 2011). O iniciador azo contém um grupamento –N=N– amplamente usado em experimentos *in vitro* que se decompõe a uma velocidade dependente da temperatura constante para originar radical centrado no carbono que reage com o O₂ para formar o radical peroxil. O radical peroxil tem energia suficiente para retirar o hidrogênio de um substrato (lipídeos), iniciando, assim, a LPO (YEUM et al., 2011;

GHISELLI et al, 2000). Quando o radical peroxil é gerado *in vitro*, é neutralizado pelos antioxidantes presentes no plasma, período no qual a oxidação é inibida e comparada ao do reagente comercial Trolox® (New Jersey, EUA), um análogo hidrossolúvel da vitamina E usado como antioxidante de referência e quantitativamente relacionado à capacidade antioxidante total do plasma. Os valores de TRAP são expressos em μM Trolox® (VASCONCELOS et al., 2007). Este método consome tempo (2 horas por amostra) e, por conseguinte, apenas um número limitado de amostras pode ser mensurado diariamente. O TRAP avaliado por este método permite a comparação dos efeitos dos antioxidantes biologicamente importantes *in vitro*. Sies relatou que urato, tocoferol e ascorbato foram as principais moléculas que contribuem para o TRAP, mas que a contribuição combinada destes três antioxidantes era apenas 27 a 43% de TRAP (SIES, 2007). Vasconcelos et al. relataram que as maiores contribuições ao TRAP são do urato (35-65%), das proteínas plasmáticas (10-50%), do ascorbato (acima de 24%) e da vitamina E (5-10%) (VASCONCELOS et al, 2007).

O AU é um ácido orgânico fraco presente sob a forma de urato monossódico em pH fisiológico no plasma e a maior parte é proveniente do desdobramento das proteínas endógenas e exógenas (SO et al., 2010). Em humanos, o AU é o produto final do metabolismo das purinas que sofrem um processo de degradação em hipoxantina e que se transforma em xantina. Por sua vez, a xantina, por ação irreversível de uma enzima denominada de xantina oxidase, se transforma em AU e este em urato monossódico (DI GIORGIO et al., 2015; VASCONCELOS et al, 2007).

Urato oxidase ou uricase é uma enzima essencial encontrada principalmente no fígado que converte o AU em alantoína que, subsequentemente, metaboliza a alantoato e, em seguida, a glioxilato e uréia. Com exceção do urato, todos os produtos apresentam alta solubilidade no plasma (DE GIORGI et al., 2015; SO et al, 2010; VASCONCELOS et al, 2007; WU, et al., 1994). Vale ressaltar que a velocidade e a quantidade de AU formado a partir das purinas dependem da xantina oxidase, ou seja, quanto maior for a quantidade desta enzima maior será a formação de AU.

Inicialmente, o AU foi considerado um produto de resíduos inertes que cristaliza em concentrações elevadas para formar cálculos renais e provocar artrite gotosa (SO et al., 2010). Subsequentemente, provou ser um antioxidante seletivo, capaz de reagir com radicais hidroxila e ácido hipocloroso e ser convertido em produtos inócuos (alantoína, alantoato, glioxilato, uréia e oxalato) (BECKER, 1993). Além disso, o AU foi reconhecido ser um potente antioxidante que elimina o O_2 *singlet* (O_2^*), radicais de O_2 , peroxinitrito e quelante de metais de transição para reduzir, por exemplo, a oxidação de ácido ascórbico mediada por ferro (SO et al., 2010). Sua concentração no plasma é de quase 10 vezes mais

elevada do que outros antioxidantes, como a vitamina C ou a vitamina E (GHISELLI et al., 2000).

As concentrações plasmáticas de AU variam de acordo com idade e sexo e são menores na infância (3,0 a 4,0 mg/dL) aumentando, posteriormente, no homem durante a puberdade e em mulheres após a menopausa (DI GIORGIO et al., 2015). Quando comparamos adultos masculinos e femininos com mesma idade, as concentrações de AU em mulheres são mais baixas do que em homens (ANTÓN et al., 1986). Das e colaboradores (2014) verificaram que o AU varia de 2,6 a 8,2 mg/dL, sendo de 3,5 a 8,7 mg/dL no sexo masculino e de 2,5 a 6,9 mg/dL no sexo feminino. Além disso, diferenças metabólicas, bem como algumas condições patológicas (doenças renais, desordens metabólicas), dieta e exercício extenuante, podem ser associadas com aumento de AU plasmático, introduzindo, assim, um outro possível fator confundidor na medida de atividade antioxidante do plasma (MAESAKA et al., 1998; MAXWELL et al., 1993; YAMASHITA et al., 1986). Estudos relatam que 60% da capacidade antioxidante do plasma se deve aos níveis séricos de AU e em pacientes com SM, com elevação do AU, poderia se verificar um falso aumento da capacidade antioxidante do plasma (SKALICKI et al., 2008). Diante da possibilidade do AU plasmático exercer um efeito antioxidante, torna-se necessária a correção dos valores obtidos no método de avaliação da capacidade antioxidante total do plasma (TRAP) pelos valores de AU plasmático, como relatado em estudos prévios (VENTURINI et al., 2012; SIMÃO et al., 2012).

A excreção de AU ocorre por meio de duas vias, pelas bactérias intestinais que degradam aproximadamente 1/3 do AU, pela uricólise intestinal e pelo rim, este é o principal regulador da homeostase, responsável por mais de 70% da excreção (GIORGIO et al., 2015; LIPKOWITZ, et al., 2012). A análise de urato pode ser realizada em soro ou em plasma pelo método enzimático automatizado, utilizando reagentes comerciais por meio da diminuição da absorbância após tratamento com uricase (VASCOLCELOS et al. 2007).

1.4 Estresse oxidativo e infecção pelo HIV

Estudos têm demonstrado o envolvimento do EO e a diminuição das defesas antioxidantes em pacientes infectados pelo HIV-1. A sinalização do estado redox é um dos principais mecanismos que regulam a replicação do HIV-1, a disfunção imune e o desenvolvimento de doença (PERL et al., 2000).

A produção excessiva de ERO, como ânion superóxido, radical hidroxil e peróxido de hidrogênio, pode estar relacionada com aumento da ativação dos leucócitos polimorfonucleares durante a infecção pelo HIV (DAS et al., 1990) ou influenciados pelo

efeito pró-oxidante do TNF- α produzido pelos macrófagos ativados durante o curso da infecção pelo HIV-1 (DAS et al, 1990; WONG et al, 1991; BUTTKE et al., 1994). Outra fonte de ERO pode ser a proteína transativadora de replicação viral (Tat) que é secretada pelas células infectadas pelo HIV-1, que induz a geração mitocondrial de ERO e é capaz de ativar as caspases (KRUMAN et al., 1998). Foi proposto que a apoptose iniciada pelo EO é a causa direta da perda de linfócitos em pacientes infectados com HIV-1 (MOLLACE et al., 2002, JAWOROWSKI et al., 1999, SEVE et al., 1999, KRUMAN et al., 1998).

Além disso, a terapia com ARVs aumenta a oxidação de proteínas, bem como o nível de EO já presente na infecção por HIV-1 (NGONDI et al., 2006). Um aspecto do papel das ERO na patogênese do HIV-1 é o efeito modulador positivo na ativação da resposta imune, importante tanto na erradicação da infecção viral, quanto na lesão celular induzida pela resposta imune (SCHWARZ, 1996).

A infecção pelo HIV-1 provoca uma inflamação crônica que é demonstrada pelos níveis plasmáticos elevados de citocinas pró-inflamatórias e inflamatórias, quimiocinas e ERO em indivíduos HIV-1 soropositivos (ISRAEL et al., 1997). As ERO atuam como segundo mensageiro para a ativação do fator nuclear de transcrição k B (NF-kB) que aumenta a replicação do HIV-1 (PYO et al, 2008). NF-kB é um fator nuclear que, quando não estimulado, se encontra no citoplasma ligado a uma proteína inibitória, o I κ B. Diversos estímulos extracelulares como o glutamato, citocinas pró-inflamatórias (IL-1, TNF- α), peptídeo β -amilóide, proteína precursora amilóide secretada e neurotrofinas causam a fosforilação do I κ B, que pode ou não ser mediada pela enzima I κ B quinase (GLEZER et al., 2000). A fosforilação do I κ B libera o NF-kB que pode translocar para o núcleo e se ligar ao DNA e, assim, induzir a transcrição dos genes do HIV-1 (PYO et al, 2008; GLEZER et al., 2000).

A ativação dos fagócitos induzida pelo HIV-1 está associada com EO, não só porque as ERO são produzidas, mas também pelo fato de que os fagócitos ativados podem produzir citocinas pró-oxidantes, tais como TNF- α e IL-1, que promovem a absorção de ferro pelo sistema monocitário-macrofágico. TNF- α é sintetizado pelas células infectadas do hospedeiro, produz efeitos pró-oxidantes na mitocôndria e inibe a respiração mitocondrial (SCHULZE-OSTHOFF et al., 1992). Outra citocina que está envolvida no EO é a IL-1. Monócitos ativados produzem IL-1 que estimula neutrófilos para liberar proteínas lisossomais, incluindo lactoferrina. Esta proteína liga-se rapidamente ao ferro e este complexo se acumula no sistema monocitário-macrofágico. Se o ferro acumulado excede a sua capacidade de ligação com a ferritina, o ferro não ligado exercerá ação pró-oxidante por interagir com o superóxido via reação de Fenton e produzir radicais hidroxila (HALLIWELL et al., 1999).

Aukrust e colaboradores (1999) demonstraram que, durante a HAART, a diminuição da CV do HIV-1 e o aumento da contagem de células T CD4⁺ são acompanhados por uma melhora no *status* redox da GSH e um aumento nos níveis de vitaminas antioxidantes. No entanto, a HAART não foi capaz de normalizar, totalmente, estes parâmetros. Estudos *in vitro* demonstraram que amostras de pacientes infectados pelo HIV-1 que receberam suplementação com GSH e foram estimuladas com anti-CD3 apresentaram aumento da proliferação de células T CD3⁺ e supressão espontânea da liberação de TNF- α pelas células sanguíneas polimorfonucleares (AUKRUST et al., 1999).

Pacientes com HIV-1 apresentam diminuição nos níveis das vitaminas C e E quando comparados com indivíduos sem a infecção (TREITINGER et al., 2000, ALLARD et al. 1998). Estes achados sugerem que o aumento do EO contribui para a patogênese da infecção pelo HIV-1 e que a intervenção terapêutica com compostos antioxidantes poderia ser benéfica, uma vez que poderia contribuir para a normalização destes parâmetros (AUKRUST et al., 1999).

Vários estudos têm demonstrado que indivíduos infectados pelo HIV-1, tanto adultos como crianças, apresentam maiores níveis de MDA quando determinados pelo método de TBARS (LOPEZ et al., 1996; MALVY et al., 1994). Um estudo realizado por Stephensen e colaboradores (2005) avaliou a associação entre a infecção pelo HIV-1, a gravidade da doença, a ativação do sistema imune e o EO em 265 pacientes infectados pelo HIV-1 e em 127 indivíduos sem esta infecção. Os autores utilizaram dois marcadores de EO, a determinação de MDA por HPLC e a dosagem de proteínas carbonílicas. Indivíduos infectados pelo HIV-1 não apresentaram maiores níveis destes dois marcadores quando comparados aos indivíduos sem infecção, embora os níveis destes marcadores se correlacionaram com o uso da terapia ARV. Os autores atribuem essa diferença ao uso da metodologia de HPLC que é mais sensível e específica que o método de TBARS.

O EO desempenha um papel importante no aparecimento da demência. A comorbidade HIV-demência tem sido demonstrada em associação com EO pelo aumento da peroxidação lipídica e proteica no cérebro e no fluido cerebrospinal (POCERNICH, 2005).

A replicação ativa do HIV-1 em macrófagos e em micróglia representa um reservatório para o vírus e um passo importante para a neuropatogênese e este processo leva à produção de produtos inflamatórios e radicais livres (MOLLACE et al., 2001).

A proteína Tat do HIV-1 diminui a concentração de GSH intracelular e aumentar o EO nas células endoteliais do cérebro (TOBOREK et al, 2003). GSH é o maior antioxidante citosólico, tem um papel importante na barreira hematoencefálica e na proteção do cérebro contra o EO e radicais livres (AGARWAL et al, 1999; VANELLA et al. 1993). A proteína Tat induz a morte neuronal por apoptose por meio de indução de TNF- α e ativação

via EO (NEW et al., 1998; SHI et al., 1998). A injeção de Tat em ratos mostrou elevação das proteínas carbonílicas, fator importante no mecanismo de neurotoxicidade (AKSENOV et al., 2001). Além de Tat, a glicoproteína gp120 do HIV-1 é capaz de produzir ERO nas células da glia levando à neurodegeneração e apoptose (ISRAEL, et al., 1997). Além disto, a proteína viral R (Vpr) do HIV-1 induz a formação de ERO em neurônios, macrófagos e micróglia (HOSHINO et al, 2010; ROM et al, 2009; SABBAH et al., 2005). O acúmulo de ERO resulta na produção de quantidades abundantes de peróxidos e radicais livres que afetam a função neuronal e, quando o estímulo de indução de oxidação é mantido durante um período prolongado, conduzem à morte das células por meio de danos no DNA (FERRUCCI et al, 2011). Em adição, a promoção de EO provoca a ativação viral em células da micróglia, o que leva a um aumento da liberação de partículas virais e, eventualmente, a Vpr (FERRUCCI et al, 2011). Portanto, Vpr extracelular pode induzir um ciclo vicioso, o que afeta diretamente os neurônios e induz a produção viral e liberação de Vpr em microglia, que também exercem impacto na função neuronal (FERRUCCI et al, 2011).

Outra molécula de regulação redox, a tioredoxina (TRX), é também transitoriamente subregulada nas células por infecção aguda por HIV-1. Em contraste, os níveis plasmáticos de TRX são elevados na fase tardia da infecção por HIV-1. GSH intracelular e TRX plasmática podem ser biomarcadores para prever o prognóstico da doença. N-acetilcisteína (NAC), um pró-fármaco de cisteína, aminoácido necessário para a síntese de GSH, tem sido utilizada no tratamento da infecção pelo HIV-1 para impedir a ativação do NF- κ B e da replicação do HIV-1. NAC apresenta alguns efeitos benéficos para indivíduos infectados pelo HIV-1, embora os níveis intracelulares de GSH em linfócitos não são significativamente restaurados (NAKAMURA et al, 2002)

Diferentes processos parecem desencadear a apoptose em linfócitos T CD4⁺, incluindo a proteína viral, secreção inapropriada de citocinas inflamatórias por macrófagos ativadas e toxinas produzidas por micro-organismos oportunistas. EO também pode induzir a apoptose; portanto, pode-se supor que o EO poderia participar na apoptose de células T CD4⁺ observada na aids (REPPETO et al., 1996). As evidências sugerem que os pacientes infectados pelo HIV-1 estão sob EO crônico (PÉREZ-MATUTE et al., 2013). Este efeito é subsequente ao esgotamento das defesas antioxidantes endógenas e a um aumento da produção de ERO (revisado por REICHE et al., 2014). A observação de múltiplas interações entre patógenos, ERO e o HIV-1 tem chamado a atenção para a possibilidade de que estas interações podem desempenhar um papel na patogênese de muitos outros vírus (REICHE et al., 2014).

Um estudo demonstrou diminuição da expressão de RNA mensageiro (mRNA) da iNOS e os níveis de NO^{*} em células mononucleares do sangue periférico de

pacientes HIV-1 infectados tanto *in vivo* como *in vitro* (CAIROLI et al., 2008). Os baixos níveis de NO[•] foram implicados na ativação e proliferação de linfócitos (BARBUL et al., 1990). Doadores de NO[•] como o nitroprussiato de sódio e, em menor grau, o NO[•] gasoso, aumentam a captação de glicose em linfócitos (um evento precoce durante a ativação de linfócitos), estimulam a produção de TNF- α e a transcrição do NF-kB e melhoram a atividade de tirosina-quinase, p56, que está implicada na sinalização de linfócitos (LANDER et al., 1993). Paradoxalmente, concentrações elevadas de NO[•] que podem ocorrer durante a ativação de macrófagos, suprimem a atividade das células apresentadoras de antígenos e proliferação de células T (HOLT et al., 1993).

Além disso, dados demonstram que a disfunção e o dano vascular estão associados com alteração da função e do metabolismo de NO[•] endotelial. Portanto, o NO[•] derivado de iNOS medeia a resposta inflamatória e tem sido demonstrado causando disfunção vascular em modelos experimentais (GUNNETT et al., 2003). Os níveis de NO[•] obtidos em pacientes infectados pelo HIV-1 são controversos. Groeneveld et al. (1996) demonstraram que as concentrações de nitrato no soro são mais elevadas em pacientes HIV-1-infectados assintomáticos do que em indivíduos saudáveis. Além disso, o aumento da produção de NO[•] foi correlacionada com CV e ativação de fagócitos mononucleares em pacientes com HIV-1. Torre et al. (1996a, 1996b) mostraram que a produção de NO[•] é maior em doentes com aids e com infecção oportunista, enquanto que as concentrações de nitrito foram normais em pacientes assintomáticos. Estes autores também confirmaram o aumento da produção de NO[•] e de IL-1 β , TNF- α e IFN- γ no soro de crianças com infecção por HIV-1 e postularam que o aumento na concentração destas citocinas pode representar uma estimulação significativa na produção de NO[•]. Zangerle et al. (1995) observaram altas concentrações de nitrito e nitrato em 39 pacientes com aids sem infecções oportunistas, especialmente em pessoas com baixa contagem de células T CD4⁺, enquanto que em pacientes assintomáticos, não verificam este aumento. No entanto, um estudo anterior mostrou que a formação de nitrato endógeno estaria inalterada em oito pacientes com aids, a maioria dos quais tinha infecções oportunistas (EVANS et al., 1994).

Alguns aspectos devem ser levados em consideração quando estes resultados, aparentemente controversos, são discutidos, incluindo o fato de que o EO foi avaliado em indivíduos infectados pelo HIV-1 que diferiam no curso clínico da doença e na presença ou ausência de infecções oportunistas. Aumento na produção de NO[•] pode não ser observado devido ao consumo de NO[•] por parte do EO. Portanto, estudos adicionais são necessários para confirmar estes resultados obtidos anteriormente.

1.5 Síndrome metabólica

1.5.1 Conceito

A SM tem sido alvo de muitos estudos nos últimos anos, considerada uma doença complexa, com alto custo sócio-econômico e responsável por uma epidemia mundial (KASSI et al., 2011).

A definição de SM tem sua origem em 1923, quando Kylin descreveu uma síndrome que envolve hipertensão, hiperglicemia e hiperuricemia (KYLIN, 1923). Na década de 1940, foi sugerida, pela primeira vez, a importância da obesidade abdominal e distribuição de gordura como um fenótipo frequente em indivíduos com DCV, diabetes *mellitus* tipo 2 e hipertensão (GAAL et al., 2008). Em 1965, Avogaro e colaboradores, em uma reunião anual apresentada na *European Association for the Study of Diabetes*, descreveram uma síndrome que compreendia hipertensão, hiperglicemia e obesidade (AVOGARO et al., 1965). Este campo de pesquisa avançou significativamente após 1988, quando Gerry Reaven introduziu o termo “Síndrome X”, definida como um conjunto de fatores de risco cardiovasculares, tais como hipertensão arterial, intolerância à glicose, elevação de triglicérides e baixas concentrações de colesterol de lipoproteína de alta densidade (*high-density lipoprotein cholesterol*/HDL-C) (REAVEN, 1988). Sua principal contribuição foi a introdução do conceito de resistência à insulina (RI) (REAVEN, 1988).

Em 1989, Kaplan rebatizou como a síndrome de “O Quarteto Mortal” (obesidade, intolerância à glicose, hipertrigliceridemia e hipertensão) (KAPLAN, 1989). Em 1992, foi novamente rebatizada de “Síndrome da Resistência à Insulina” (HAFFNER et al., 1992). Atualmente, o termo mais bem estabelecido é “Síndrome Metabólica”, que representa uma combinação de fatores determinantes de risco cardiovascular, incluindo a obesidade (especialmente adiposidade central), intolerância à glicose e RI, dislipidemia (incluindo hipertrigliceridemia, aumento de ácidos graxos livres e diminuição do HDL-C) e hipertensão. Mais recentemente, também tem sido associada a manifestações clínicas e laboratoriais, como a síndrome de ovário policístico, aterosclerose, estado proinflamatório, EO e doença hepática gordurosa não alcoólica (BRUCE et al., 2009).

A importância da SM se deu pela constatação de sua relação com DCV e diabetes *mellitus* tipo 2 (GRUNDY et al., 2004). Quando presente, está relacionada a uma mortalidade geral 1,5 vezes maior e mortalidade cardiovascular 2 vezes maior que na população saudável (MOTTILLO et al., 2010).

Desde então, muitas organizações internacionais e grupos de pesquisadores, tais como *World Health Organization* (WHO), *the European Group for the*

study of Insulin Resistance (EGIR), the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP:ATPIII), the American Association of Clinical Endocrinology (AACE), The International Diabetes Federation (IDF) e The American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute (AHA/NHLBI), têm tentado incorporar todos os diferentes parâmetros usados para definir a SM.

1.5.2 Síndrome metabólica e infecção pelo HIV

A infecção pelo HIV e tratamento com ARVs pode levar a DCV por meio de vários mecanismos fisiopatológicos (em conjunto com fatores ambientais e genéticos). Há uma interação muito complexa de vários fatores relacionados. Dentre eles, o HIV e ARVs apresentam efeitos diretos no tecido adiposo e função hepática com dislipidemia subsequente, lipodistrofia e RI. Outro impacto direto inclui efeitos sobre as células endoteliais e células do músculo liso vascular que conduzem a disfunção endotelial vascular e hipertensão com subsequente aterosclerose e infarto do miocárdio. A ativação imune contínua e a replicação viral podem levar a uma ativação permanente de células T que também pode ser afetada por uma reativação de outros vírus. ARV e HIV podem também estimular um estado crônico de inflamação e ter uma complexa interação com fatores de coagulação. Estas vias são interrelacionadas e mediam os efeitos indiretos do HIV e ARV na DCV (Figura 1).

É inquestionável o sucesso da HAART, mas inúmeros trabalhos já comprovam o aumento substancial da prevalência de diabetes *mellitus* tipo 2, RI, redistribuição de gordura, hipertensão e dislipidemia como efeitos adversos a esta terapia (BARBARO, 2006).

A prevalência de SM em pacientes infectados pelo HIV-1 varia de 11,4 a 45,4% nos diversos estudos (PAULA et al., 2013). Jantarapakde e colaboradores (2014) relataram uma prevalência de SM de 15,9% em pacientes virgens de tratamento (*naïve*) e 24,9% em pacientes tratados com ARVs. Dois padrões de dislipidemia são fatores de risco para a DCV; o primeiro está relacionado com um aumento do LDL-C, geralmente por predisposição genética, e o segundo está relacionado com aumento da concentração de triglicérides e diminuição do HDL-C, que tem sido comumente encontrado em pacientes com outras alterações metabólicas como obesidade central, diabetes *mellitus* e hipertensão (KOTLER, 2008; SAMARAS et al., 2007).

Estudos clínicos têm revelado que o uso prolongado de HAART e combinação de ITRN e IP estão associados à lipodistrofia e alterações metabólicas (GOUGEON et al., 2004). As três classes de ARVs que incluem ITRN, ITRNN e IP estão

associadas à síndrome lipodistrófica. Porém, a utilização dos IP parece ser mais fortemente associada com o acúmulo de gordura visceral e com componente da SM caracterizada pelo aumento dos níveis de triglicerídeos, lipoproteínas ricas em triglicerídeos e RI, com base na observação de que estas alterações metabólicas têm sido encontradas após uma exposição de curta duração a IP em voluntários saudáveis (NOOR et al. 2001; PURNELL et al., 2000) e após a introdução dos IP em pacientes infectados pelo HIV (RAKOTOAMBININA et al., 2001; VIGOUROUX et al., 1999). Por outro lado, os ITRN têm um papel importante na perda de massa de gordura periférica (SAINT-MARC et al., 1999) e parecem ter menos efeito sobre o metabolismo lipídico e a sensibilidade à insulina (RAKOTOAMBININA et al., 2001).

As drogas IP têm como alvo catalítico a região da protease do HIV-1 que é homóloga com as regiões de duas proteínas humanas que regulam o metabolismo dos lipídeos, a proteína CRABP-1 e da LRP (CARR et al., 1998). Especula-se que os IP se ligam a esta região homóloga dentro CRABP-1 e assim inibem a ligação do ácido retinóico, resultando na diminuição da produção do cis-9-retinóico que levaria a uma redução da atividade do receptor X retinóico e, como consequência, a redução da diferenciação e aumento da apoptose dos adipócitos. Ambas as circunstâncias levam à hiperlipidemia, reduzindo os estoques de triglicerídeos e liberação de lipídeos para a circulação (CARR et al., 1998). Outro mecanismo seria a inibição do citocromo P4503A que é responsável em converter o ácido retinóico em cis-9-retinóico (CARR et al., 1998). Também temos o mecanismo da LRP, que é um receptor importante para o *clearance* de quilomícrons e é co-expressada no endotélio capilar como lipase lipoprotéica (LPL) (CARR et al., 1998). O complexo LPL-LRP cliva os ácidos graxos da circulação em triglicerídeos, permitindo a entrada de ácidos graxos livres nos adipócitos para armazenamento de gordura (CARR et al., 1998). Os IP inibem o complexo LPL-LRP, levando à obesidade central, gordura nas mamas e RI (CARR et al., 1998).

No entanto, estudos posteriores mostraram que a infecção pelo HIV-1, por si só, está associada com estas alterações metabólicas, especialmente com a diminuição dos níveis séricos do HDL-C, elevação dos triglicerídeos e elevação da pressão sanguínea (RACHID et al., 2008; BONFANTI et al., 2010).

Outros fatores biológicos, como a inflamação, são fatores de risco para a DCV. Muitos autores têm sugerido que a infecção pelo HIV-1 não tratada é um exemplo de inflamação crônica que pode ocasionar aterosclerose (KOTLER, 2008). A infecção pelo HIV-1, por si só, é um fator de risco para DCV (ADEYEMI et al., 2008). As complicações metabólicas aumentam os riscos de DCV em pacientes com infecção pelo HIV-1. No entanto, tanto na população em geral como em pacientes com HIV-1, a DCV é um processo multifatorial, no qual incluem os fármacos ARVs, fatores genéticos, ambientais e o próprio

HIV-1 (AMADO et al., 2007).

A relação entre o grau de RI e níveis do receptor solúvel do TNF- α (sTNFR) sugere que um estímulo inflamatório pode contribuir para o desenvolvimento de lipodistrofia associada ao HIV-1 (MYNARCIK et al., 2000). O TNF- α ativa a enzima 11-beta-hidroxiesteróide-desidrogenase que converte cortisona em cortisol. A atividade desta enzima é mais elevada em gordura visceral em comparação com gordura subcutânea. A gordura visceral é capaz de produzir cortisol, localmente, que poderia atuar nos adipócitos aumentando o acúmulo de lipídeos (GOUGEON et al., 2004). Além disso, a diminuição na expressão de leptina e adiponectina, que pode resultar na diminuição da diferenciação de adipócitos, também contribui para a RI (JAN et al., 2004).

A Figura 1 apresenta os mecanismos fisiopatológicos da doença cardiovascular em indivíduos infectados pelo HIV-1

Fisiopatologia da DCV em indivíduos infectados pelo HIV

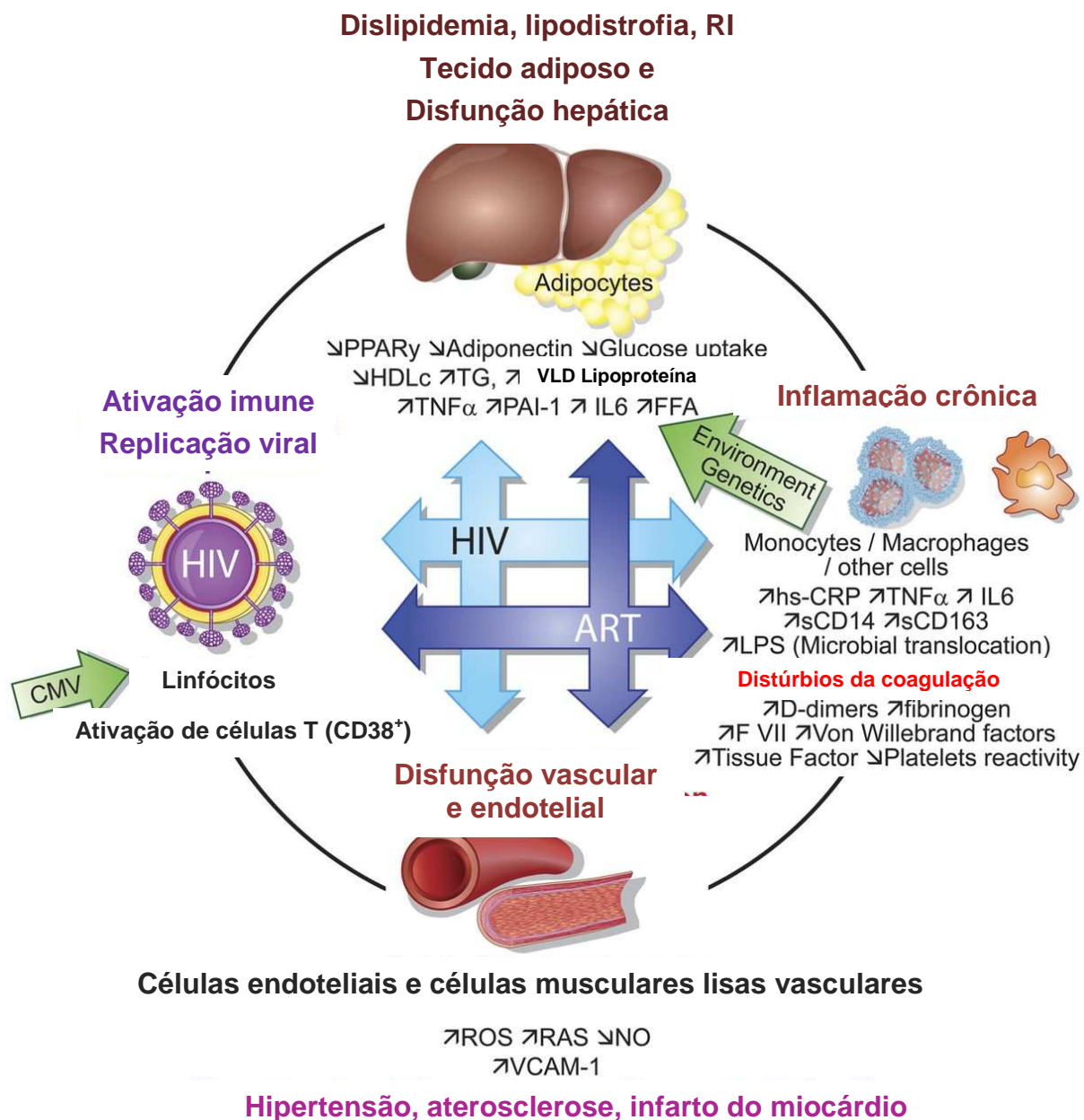


Figura 1 – Fisiopatologia da doença cardiovascular em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana

Legendas: DCV: Doença cardiovascular; HIV: Vírus da imunodeficiência humana; RI: Resistência a insulina; ART: Terapia antirretroviral; hs-CRP: Proteína C Reativa de alta sensibilidade; TNF α : Fator de necrose tumoral alfa; IL-6: Interleucina 6; sCD14: CD14 solúvel; sCD163: CD163 solúvel; LPS: Lipopolissacarídeos; F VII: Fator VII; PPAR γ : Receptor gama de proliferador de peroxissoma ativado; HDLc: Colesterol de lipoproteína de alta densidade; TG: Triglicerídeos; VLDL: lipoproteínas de densidade muito baixa; PAI-I: Inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1; FFA: Ácidos graxos livres; ROS: Espécie reativa de oxigênio; RAS: Sistema renina angiotensina; NO: Óxido nítrico; VCAM-1: Molécula de adesão celular vascular tipo 1; CMV: citomegalovírus

Fonte: HEMKENS; BUCHER (2014).

1.6 Estresse oxidativo e níveis de adiponectina na SM

O EO é importante fator na patogênese da SM, em especial, nas manifestações de RI, alterações na insulinemia, hiperglicemia, disfunção endotelial, dislipidemia e obesidade (FERREIRA et al., 2012). O peróxido de hidrogênio prejudica a sinalização de insulina e inibe o transporte de glicose, duas características da RI (KEANEY et al., 2003). Além disso, a própria insulina promove a geração de hidroperóxido em células gordurosas, o que sugere que o EO é o principal mecanismo de RI com hiperinsulinemia crônica (KEANEY et al., 2003).

Evidências têm demonstrado que o EO pode desencadear a SM pelo desenvolvimento da RI (URAKAWA et al., 2003; ANDO et al., 2009). Elevação da ERO promove liberação de ácidos graxos livres e desregulação das adipocitocinas no tecido adiposo; além disso, diminui a absorção de glicose no fígado e músculo esquelético (ABDILLA et al., 2007).

Adipócitos regulam muitos processos fisiológicos por meio da secreção de adipocinas e, em particular, a adiponectina pode ser a chave para a manutenção da saúde global (PEPPING et al., 2014, ROCHA et al., 2008), uma vez que dados experimentais e epidemiológicos sustentam a importância da adipocina na fisiologia metabólica e neurológica (PEPPING et al., 2014).

A adiponectina é um hormônio secretado, principalmente, pelo tecido adiposo e desempenha um papel importante em distúrbios metabólicos, tais como obesidade, diabetes tipo 2, doenças arteriais coronarianas e síndrome metabólica, por atuar na melhoria da sensibilidade insulínica (HARA et al., 2005; KIM et al., 2007; SIMPSON; SINGH, 2008) e por apresentar propriedades anti-inflamatórias e anti-aterogênicas (HARA et al., 2005; AHMADIZAD; HAGHIGHI; HAMEDINIA, 2007; SIMPSON; SINGH, 2008).

O gene da adiponectina está localizado no cromossomo 3q27, um *locus* que foi recentemente associado com a susceptibilidade à diabetes e SM (KISSEBAH et al., 2000, VIONNET et al., 2002) e codifica para um polipeptídeo de 244 aminoácidos (NAKANO et al., 1996). Em termos de fisiologia, a adiponectina demonstrou estar envolvida na RI e inflamação vascular, atuando como um modulador endógeno de resposta inflamatória endotelial (KETLOGETSWE et al., 2014). Também apresenta propriedades neuroprotetoras e vasculoprotetoras (CHEN et al., 2009, JUNG et al., 2006, OUEDRAOGO et al., 2007). Baixos níveis de adiponectina plasmática podem prever o comprometimento cognitivo (KAMOGAWA et al., 2010) e a diminuição do volume do hipocampo (MASAKI et al., 2012). Em pacientes infectados pelo HIV, os níveis séricos de adiponectina estão diminuídos (VELOSO et al., 2012, KINLAW et al., 2004, ADDY et al., 2003) e a hipoadiponectinemia

correlaciona-se com disfunção cognitiva em ratos tratados com ARV (GUPTA et al., 2012). Estas observações sugerem que a terapia de substituição com adiponectina poderia corrigir a disfunção metabólica e manter o desempenho neurológico no contexto da terapia de ARV crônica (PEPPING et al., 2014). No entanto, terapias à base de adiponectina não estão disponíveis atualmente, provavelmente devido a dificuldades em converter o tamanho completo da proteína adiponectina numa droga viável (PEPPING et al., 2014)

2 JUSTIFICATIVA

De acordo com os relatos da literatura, fica evidente a importância do estudo das alterações metabólicas e do EO associados à SM em pacientes infectados pelo HIV-1, situações que têm como etiologia a interação entre diferentes fatores genéticos e ambientais. O estudo das alterações metabólicas e do EO em indivíduos infectados pelo HIV-1 atendidos em serviços especializados de saúde de Londrina, Paraná, e a sua associação com o uso de HAART por estes pacientes, poderá contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos da infecção pelo HIV-1, além de proporcionar uma reavaliação das medidas de controle e manejo dos pacientes que vivem com HIV/aids em nossa população. Informações sobre estas alterações metabólicas e do EO poderão contribuir para a caracterização de um perfil de marcadores que possam ser utilizados na identificação de indivíduos que teriam maior chance de apresentar a SM e, com isto, DCV, um dos efeitos adversos da ARV e da infecção crônica pelo HIV-1.

Os resultados obtidos neste estudo poderão, também, indicar a relevância da inclusão da avaliação de marcadores do EO em indivíduos infectados pelo HIV-1 na rotina laboratorial e os pacientes poderiam ser beneficiados com estratégias diferenciadas como o monitoramento clínico e laboratorial em intervalos menores de tempo em pacientes com HAART.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o papel da SM e da terapia com antirretrovirais no EO e níveis de adiponectina em pacientes infectados pelo HIV-1

3.2 Objetivos específicos

3.2.1. Determinar as características demográficas, antropométricas, clínicas e laboratoriais de pacientes infectados pelo HIV-1 com ou sem SM, usando ou não a terapia ARV;

3.2.2 Avaliar os marcadores do EO em pacientes infectados pelo HIV-1 com ou sem SM usando ou não a terapia ARV;

3.2.3 Avaliar os marcadores laboratoriais da progressão da infecção em pacientes infectados pelo HIV-1 com ou sem SM, usando ou não a terapia ARV;

3.2.4 Descrever os mecanismos do estado redox e suas implicações clínicas em pacientes infectados pelo HIV-1 e aids.

4 CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aspectos Éticos

Este estudo foi realizado de acordo com as orientações da Declaração de Helsinki e do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade de Londrina que aprovou todos os procedimentos previstos no estudo (anexo A). Após o convite e serem totalmente esclarecidos sobre o estudo, foi obtido o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) de todos os indivíduos (anexo B).

4.2 Delineamento

Realizou-se um estudo descritivo, transversal e prospectivo, no período de setembro de 2010 a março de 2011.

4.3 População

A população foi constituída de pacientes infectados pelo HIV-1 de ambos os sexos, maiores que 18 anos de idade, atendidos no Centro Integrado de Doenças Infecciosas DST/Aids da 17ª Regional de Saúde do Estado do Paraná, com sede em Londrina, e no

Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina.

O diagnóstico da infecção pelo HIV-1 foi realizado de acordo com a Portaria nº. 151 de 14 de outubro de 2009 do Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde (BRASIL, 2009) e os critérios de definição de casos de aids em adultos e crianças conforme o Manual do Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids (BRASIL, 2004).

4.4 Cálculo Amostral

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado no Programa STATCALC do EPI INFO versão 6.04d (DEAN et al., 1995), considerando-se a prevalência média de 20% (JANTARAPAKDE et al., 2014) das alterações lipídicas e SM na população de pacientes infectados pelo HIV-1 com erro de 5% na estimativa e intervalo de confiança (IC) de 95%.

4.5 Amostra

A amostra foi obtida de forma consecutiva, por conveniência de tempo e local. Foram inseridos 285 pacientes infectados pelo HIV-1, alocados em dois grupos controlados pela idade, sexo e etnia, sendo 284 pacientes com SM e 101 pacientes sem SM.

Posteriormente, para verificar os efeitos da utilização de ARV e a presença de SM sobre os marcadores laboratoriais, de EO e parâmetros relacionados à progressão da doença, os pacientes infectados pelo HIV-1 foram alocados em quatro grupos, também controlados pela idade, sexo e etnia, como se segue:

Grupo 1 (G1): Pacientes sem SM que não estavam usando ARV (SM-ARV-);

Grupo 2 (G2): Pacientes sem SM usando ARV (SM-ARV+);

Grupo 3 (G3): Pacientes com SM que não estavam usando ARV (SM+ARV-);

Grupo 4 (G4): Pacientes com SM usando ARV (SM+ARV+).

As informações sobre os dados demográficos, fatores de estilo de vida e história médica foram obtidas por meio de uma avaliação clínica com a aplicação de um questionário (Anexo C). A duração da doença e terapias utilizadas foram registradas para cada paciente. Os participantes relataram não estarem em uso de dieta específica, não consumirem álcool regularmente e fumo. Os participantes do estudo não estavam em uso de terapia de reposição hormonal, medicamentos para tratamento da hiperlipidemia, hiperglicemia ou suplementos antioxidantes. Os pacientes que estavam em uso de medicamentos anti-hipertensivos não foram excluídos por razões éticas e foram autorizados

a continuar o uso da mesma dose dos medicamentos previamente prescritos.

4.6 Critérios de Definição de Síndrome Metabólica

A SM foi definida de acordo com os critérios do NCEP-ATP III revistos e atualizados em 2005 pelo consenso da AHA/NHLBI (GRUNDY et al., 2005). Os componentes da SM, segundo o NCEP-ATP III, utilizados foram:

1. Níveis de obesidade abdominal por meio de circunferência abdominal: homens ≥ 102 cm e mulheres ≥ 88 cm;
2. Hipertrigliceridemia ≥ 150 mg/dL;
3. Níveis baixos de HDL-C: homens ≤ 40 mg/dL e mulheres ≤ 50 mg/dL;
4. Hipertensão arterial ≥ 130 mmHg para pressão arterial sistólica ou ≥ 85 mmHg para pressão arterial diastólica;
5. Hiperglicemia avaliada de acordo com a glicemia de jejum ≥ 100 mg/dL.

4.7 Determinações Antropométricas e Aferição da Pressão Arterial

O peso corporal foi medido com aproximação de 0,1 quilograma (kg) utilizando uma balança eletrônica, com os indivíduos vestindo roupas leves, sem sapatos e no período da manhã. A altura foi medida com uma aproximação de 0,1 centímetro (cm) por meio de um estadiômetro. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado como peso (kg) dividido pela altura (m) ao quadrado. A circunferência abdominal foi mensurada e expressa em cm. Três aferições de pressão arterial foram realizadas com um intervalo de um minuto com o paciente sentado. A média destas aferições, expressas em mmHg, foi utilizada na análise dos dados.

4.8 Marcadores Laboratoriais

Após jejum de 12 horas, os pacientes foram submetidos à coleta de sangue venoso sem anticoagulante para a determinação dos níveis séricos de AU, colesterol total, LDL-C, HDL-C e triglicerídeos e, com anticoagulante fluoreto para determinação de glicose. Os parâmetros foram avaliados utilizando-se um autoanalisador bioquímico (Dimension[®] RxL Max, Sistema Integrado de Química, Newark, NJ, USA), segundo as recomendações e valores de referência do fabricante.

Os níveis séricos de insulina foram determinados por imunoensaio de QL por micropartículas (Architect i2000[®], Abbott Laboratório, Abbott Park, IL, USA), segundo as

recomendações e valores de referência do fabricante.

Amostras de sangue periférico foram coletadas com anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) para a determinação dos níveis plasmáticos de adiponectina, com reagentes comerciais por metodologia de enzimaímmunoensaio (ELISA) de sanduíche (Ready-Set-Go![®], e-Bioscience, San Diego, CA, USA).

O modelo da homeostase de avaliação da resistência à insulina (HOMA-IR) foi utilizado como uma medida substituta da sensibilidade à insulina (HAFFNER et al., 1997). A RI foi calculada segundo a fórmula descrita a seguir e considerada quando HOMA $\geq 2,5$.

$$\text{HOMA-IR} = \text{insulina (mU/mL) em jejum} \times \text{glicose (nmol/L)} / 22,5$$

4.9 Contagem de Linfócitos T

Amostras de sangue periférico foram coletadas com anticoagulante EDTA para a contagem de linfócitos T CD45⁺, T CD3⁺, T CD4⁺ e T CD8⁺ pelo método de citometria de fluxo (plataforma BD FACSCalibur[®], BD Bioscience, San Jose, CA, USA). Os resultados foram expressos em células/mm³, segundo as recomendações do fabricante.

4.10 Determinação da Carga Viral Plasmática de RNA-HIV-1

A quantificação do RNA do HIV-1 no plasma foi realizada por metodologia de DNA *branched* (bDNA), utilizando-se a plataforma Systems 340[®] bDNA *Analyser* (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Tarrytown, NY, USA), segundo as recomendações do fabricante. Os valores foram expressos como cópias/mL e log₁₀ RNA do HIV-1.

4.11 Avaliação do Estresse Oxidativo

Para avaliar o EO, amostras de sangue periférico foram coletadas utilizando EDTA como anticoagulante. O material foi centrifugado a 3.000 r.p.m. por 15 minutos e alíquotas do plasma foram armazenadas no *freezer* a -80°C até o momento de uso.

4.11.1 Determinação de hidroperóxidos lipídicos iniciados por t-butil (CL-LOOH)

A avaliação da formação de lipoperóxidos por QL foi efetuada em uma adaptação da técnica descrita por Gonzales-Flecha e colaboradores (1991). A QL estimulada por t-butil hidroperóxido (CL-LOOH) foi empregada para analisar a integridade dos mecanismos de defesa antioxidantes não enzimáticos e os níveis de lipoperóxidos presentes no plasma. O teste baseia-se na premissa de que um aumento de QL está relacionado com um EO prévio sofrido pelo tecido, levando ao consumo das defesas antioxidantes de baixo peso molecular, tais como vitamina E, com formação de lipoperóxidos, resultando em um aumento da emissão de fótons. Foi utilizado um contador β (Beckman[®] modelo LS 6000, Fullerton, CA, USA) que possui um modelo de contagem não coincidente por 30 segundos, com uma faixa de resposta entre 300 e 620 nM. As análises foram efetuadas em frascos de plástico para cintilação e protegidas da luz. Os resultados foram medidos em cpm (SIMÃO, et al., 2010).

4.11.2 Capacidade antioxidante total do plasma (*total radical trapping antioxidant parameter*/TRAP)

Determinou-se a capacidade antioxidante total do plasma por meio da técnica do TRAP. Nesta análise, avaliou-se a ação cumulativa de todos os antioxidantes presentes no meio que resulta em um parâmetro integrado capaz de revelar alterações no delicado equilíbrio redox existente *in vivo* (VASCONCELOS et al., 2007). Esta técnica quantifica antioxidantes hidro e lipossolúveis presentes no plasma, por meio de QL, como descrito previamente por Repetto e colaboradores (1996). Baseia-se no princípio da adição de um azoiniciador ao plasma, substância capaz de gerar radicais livres, que por sua vez, são neutralizados pelos antioxidantes presentes no plasma, neste período a oxidação é inibida e comparada ao produto comercial Trolox[®] (New Jersey, EUA), análogo hidrossolúvel da vitamina E, usado como antioxidante de referência e quantitativamente relacionado a capacidade antioxidante total do plasma. Os valores de TRAP foram expressos em μM Trolox[®] (VASCONCELOS et al., 2007). Os valores de TRAP foram corrigidos pelos níveis séricos de AU, segundo estudos prévios (VENTURINI et al. 2012; SIMÃO et al., 2012) e os resultados foram expressos pela razão entre TRAP/AU.

4.11.3 Determinação de produtos avançados de oxidação protéica (AOPP)

AOPP foram determinados em amostras de plasma utilizando o método semiautomático descrito por Witko-Sarsat e colaboradores (1998). AOPP resulta da oxidação de resíduos de aminoácidos, tais como tirosina, que conduzem à formação de ditirosina detectadas por espectrofotometria. As concentrações de AOPP foram expressas como micromoles por litro ($\mu\text{mol/L}$) de equivalentes de cloramina-T.

4.12 Análise Estatística

Para realizar a análise estatística das variáveis categóricas, utilizou-se o teste de qui-quadrado (χ^2) ou teste exato de Fisher, quando apropriados, para comparar pacientes infectados pelo HIV-1 com e sem SM e os dados foram expressos em número absoluto e porcentagem (%). Para as variáveis contínuas, utilizou-se o teste de Mann-Whitney para comparação dos grupos de pacientes infectados pelo HIV-1 com ou sem SM, pois os dados não apresentaram distribuição gaussiana. Para comparação dos quatro grupos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis com *post-test* de Dunn e os dados foram expressos como mediana e interquartil (25%-75%). A correlação das variáveis foi realizada utilizando-se o coeficiente de correlação de Spearman. A análise estatística foi realizada no programa *GraphPad Prism* versão 4.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Para determinar se os fatores foram independentemente associados com a SM e ARV, as variáveis que apresentaram $p < 0,10$ na análise univariada e aqueles valores que supostamente possuíam relevância clínica foram incluídos na análise de regressão logística multivariada, avaliada por meio do software *GraphPad Instant* versão 3.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Todos os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

Os resultados obtidos foram apresentados e discutidos em dois artigos científicos.

5.1 Artigo 1: Role of metabolic syndrome and antiretroviral therapy in adiponectin levels and oxidative stress in HIV-1 infected patients

O artigo original foi aceito para publicação em 17 de março de 2014 na *Nutrition* (Elsevier), com o título: *Role of metabolic syndrome and antiretroviral therapy in adiponectin levels and oxidative stress in HIV-1 infected patients*. Morimoto HK, Simão AN, de Almeida ER, Ueda LT, Oliveira SR, de Oliveira NB, Petenucci DL, Panis C, Cecchini R, Dichi I, Reiche EM. *Nutrition* 2014;30 (11-12):1324-30. doi: 10.1016/j.nut.2014.03.017. Epub 2014 Mar 30.

5.2 Artigo 2: Redox-Driven Events in the Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Infection and their Clinical Implications

O artigo de revisão foi aceito para publicação em 13 de março de 2015 na *Current HIV Research*, com o título: *Redox-Driven Events in the Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Infection and their Clinical Implications*. Colado Simão AN, Victorino VJ, Morimoto HK, Reiche EM, Panis C. *Curr HIV Res* 2015; Mar 13. [Epub ahead of print]

6 CONCLUSÕES

Os dados permitem concluir que pacientes infectados pelo HIV-1 com SM exibiram hipoadiponectinemia e aumento do EO e que não foram influenciados pelo uso de ARV. Além da adiponectina ter sido encontrada em menor concentração nos pacientes com SM, a concentração de produtos do EO e a capacidade antioxidante nos pacientes sem SM foi mais frequente do que entre os pacientes com SM. O estudo sugere que SM e inflamação podem ser os principais responsáveis pelo desenvolvimento da hipoadiponectinemia e EO.

Infecção pelo HIV-1 leva ao EO e alteração do estado *redox* nas células do hospedeiro, infectadas ou não pelo HIV-1. As EROs parecem exercer um forte efeito sobre a progressão da doença, ao passo que o NO pode afetar a capacidade do hospedeiro em controlar a CV e os sintomas da doença. As manifestações clínicas da infecção HIV/aids são também dependentes do evento *redox* que é muito importante quando a doença afeta o SNC.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O restrito número de pacientes em cada grupo avaliado e a análise de uma única amostra de cada paciente determinada pelo delineamento transversal podem ser as principais limitações do presente estudo, uma vez que amostras seriadas poderiam contribuir para uma melhor avaliação do papel do EO na evolução clínica dos pacientes com HIV-1/aids e nas alterações dos marcadores analisados ao longo do tempo, assim como definir melhor a natureza preditora de cada marcador avaliado. A liberação de citocinas e adipocitocinas e outros marcadores inflamatórios e de EO são tempo-dependentes e como uma única amostra foi avaliada, alguns resultados podem ter sido influenciados pelo delineamento do estudo.

Considerando estas limitações, os dados permitem concluir que pacientes infectados pelo HIV-1 com SM exibiram hipoadiponectinemia e aumento do EO e que estas alterações não foram influenciadas pelo uso de ARV. O estudo sugere que SM e inflamação podem ser os principais responsáveis pelo desenvolvimento das alterações metabólicas e do EO observadas nesta coorte de pacientes infectados pelo HIV-1. No entanto, estudos são necessários com delineamentos longitudinais e/ou intervencionistas para verificar se uma modificação na dieta alimentar e alterações no estilo de vida podem minimizar ou mesmo corrigir a hipoadiponectinemia e o aumento do EO e, conseqüentemente, reduzir as

complicações relacionadas à SM (como os riscos de DCV, diabetes *mellitus* tipo 2 e disfunção lipídica) e progressão da infecção viral.

A infecção pelo HIV-1 leva ao EO e alteração do estado *redox* nas células do hospedeiro. O EO parece exercer um forte efeito sobre a progressão da doença, podendo afetar a capacidade do hospedeiro em controlar a replicação viral e os sintomas da doença. As manifestações clínicas da infecção pelo HIV/aids são também dependentes dos eventos *redox*; portanto, o conhecimento profundo sobre a biologia dos fenômenos mediados pelo estado *redox* em HIV/aids pode contribuir para novas abordagens terapêuticas no futuro.

REFERÊNCIAS

ABDILLA, N., TORMO, M.C., FABIA, M.J., CHAVES, F.J., SAEZ, G., REDON, J. Impact of the components of metabolic syndrome on oxidative stress and enzymatic antioxidant activity in essential hypertension. **Journal of Human Hypertension**, n.21, v.1, p.68-75, 2007.

ADDY, C.L., GAVRILA, A., TSIODRAS, S., BRODOVICZ, K., KARCHMER, A.W., MANTZOROS, C.S. Hypoadiponectinemia is associated with insulin resistance, hypertriglyceridemia, and fat redistribution in human immunodeficiency virus-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, n. 88, v.2, p. 627-636, 2003.

ADEYEMI, O., REZAI, K., BAHK, M., BADRI, S., THOMAS-GOSSAIN, N. Metabolic syndrome in older HIV-infected patients: data from the CORE50 cohort. **AIDS Patient Care STDS**, v.22, n.12, p.941-945, 2008.

AGARWAL, R., SHUKLA, G.S. Potential role of cerebral glutathione in the maintenance of blood-brain barrier integrity in rat. **Neurochemical Research**, v.24, n.12, p. 1507-1514, 1999.

AKSENOV, M.Y., HASSELROT, U., BANSAL, A.K., WU, G., NATH, A., ANDERSON, C., MACTUTUS, C.F., BOOZE, R.M. Oxidative damage induced by the injection of HIV-1 Tat protein in the rat striatum. **Neuroscience Letters**, v.305, n.1, p.5-8, 2001.

ALLARD, J.P., AGHDASSI, E., CHAU, J., SALIT, I., WALMSLEY, S. Oxidative stress and plasma antioxidant micronutrients in humans with HIV infection. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.67, n.1, p. 143-147, 1998.

ALVES, C., OLIVEIRA, A.C., BRITES, C. Lipodystrophic syndrome in children and adolescents infected with the human immunodeficiency virus. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.12, n. 4, p.342-348, 2008.

ALVES, M.D., BRITES, C., SPRINZ, E. HIV-associated lipodystrophy: a review from a Brazilian perspective. **Journal of Therapeutics and Clinical Risk Management**, v.10, p.559-566, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4108257/pdf/tcrm-10-559.pdf>>. Acesso em: 11 abril 2015.

ANDO, K., FUJITA, T. Metabolic syndrome and oxidative stress. **Free Radical Biology & Medicine**, v.47, n.3, p.213-218, 2009

ANTÓN, F.M., GARCÍA-PUIG, J., RAMOS, T., GONZÁLEZ, P., ORDÁS, J. Sex differences in uric acid metabolism in adults: evidence for a lack of influence of estradiol-17 beta (E2) on the renal handling of urate. **Metabolism**, v.35, n.4, p.343-348, 1986.

AQUARO, S., MUSCOLI, C., RANAZZI, A., POLLICITA, M., GRANATO, T., MASUELLI, L., MODESTI, A., PERNO, C.F., MOLLACE, V. The contribution of peroxynitrite generation in HIV replication in human primary macrophages. **Retrovirology**, v.4, n.76, 2007, 10p. Disponível em: < <http://www.retrovirology.com/content/pdf/1742-4690-4-76.pdf>>. Acesso em: 11 abril 2015.

AUKRUST, P., MÜLLER, F. Glutathione redox disturbances in human immunodeficiency virus infection: immunologic and therapeutic consequences. **Nutrition**, v.15, n.2, p.165-167, 1999.

AVOGARO, P., CREPALDI, G., ENZI, G., TIENGO, A. Metabolic aspects of essential obesity. **Epatologia**, v.11, n.2, p.226-238, 1965.

AYALA, A., MUÑOZ, M.F., ARGÜELLES, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.2014, n.360438, 31p, 2014. Disponível em:< <http://www.hindawi.com/journals/omcl/2014/360438/>>. Acesso em: 25 março 2015.

BARBOSA, K.B.F, COSTA, N.M.B., ALFENAS, R.C.G, De PAULA, S.O., MINIM, V.P.R, BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v.23, n.4, p. 629-643, 2010.

BARBARO, G. Metabolic and cardiovascular complications of highly active antiretroviral therapy for HIV infection. **Current HIV Research**, v.4, n.1, p.79-85, 2006.

BARBUL, A., LAZZAROU, S.A., EFRON, D.T., WASSERKRUG, H.L., EFRON, G. Arginine enhances wound healing and lymphocyte immune responses in humans. **Surgery**, v.108, n.2, p.331-336, 1990.

BARRÉ-SINOUSSE, F., CHERMANN, J.C., REY, F., NUGEYRE, M.T., CHAMARET, S., GRUEST, J., DAUGUET, C., AXLER-BLIN, C., VÉZINET-BRUN, F., ROUZIQUX, 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.

BASTARD, J.P., CARON, M., VIDAL, H., JAN, V., AUCLAIR, M., VIGOUROUX, C., LUBOINSKI, J., LAVILLE, M., MAACHI, M., GIRARD, P.M., ROZENBAUM, W., LEVAN, P., CAPEAU, J. Association between altered expression of adipogenic factor SREBP1 in lipotrophic adipose tissue from HIV-1-infected patients and abnormal adipocyte differentiation and insulin resistance. **Lancet**, v.359, n.9311, p.1026-1031, 2002.

BECKER, B.F. Towards the physiological function of uric acid. **Free Radical in Biology and Medicine**, v.14, n.6, p.615-631, 1993.

BHASKARAN, K., HAMOUDA, O., SANNES, M., BOUFASSA, F., JOHNSON, A.M., LAMBERT, P.C., PORTER, K., CASCADE COLLABORATION. Changes in the risk of death after HIV seroconversion compared with mortality in the general population. **JAMA**, v.300, n.1, p.51-59, 2008.

BIRBEN, E., SAHINER, U.M., SACKESSEN, C., ERZURUM, S., KALAYCI, O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **World Allergy Organization**, v.5, n.1, p.9-19, 2012

BONFANTI, P., De SOCIO, G.L., MARCONI, P., FRANZETTI, M., MARTINELLI, C., VICHI, F., PENCO, G., MADEDDU, G., OROFINO, G., VALSECCHI, L., VITIELLO, P., MENZAGHI, B., MAGNI, C., RICCI, E. Is metabolic syndrome associated to HIV infection per se? Results from the HERMES study. **Current HIV Research**, v.8, n.2, p.165-171, 2010.

BOULWARE, D.R., HULLSIEK, K.H., PURONEN, C.E., RUPERT, A., BAKER, J.V., FRENCH, M.A., BOHJANEN, P.R., NOVAK, R.M., NEATON, J.D., SERETI, I., INSIGHT STUDY GROUP. Higher levels of CRP, D-dimer, IL-6, and hyaluronic acid before initiation of

antiretroviral therapy (ART) are associated with increased risk of AIDS or death. **The Journal of Infection Diseases**, v.203, n.11, p.1637-1646, 2011

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Histórias da luta contra a AIDS: A união de todos os atores para o enfrentamento da AIDS**. Brasília, v.1, p. 1-32, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico: HIV/aids**. Brasília, Ano III, n.1, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico: HIV/aids**. Brasília, Ano II, n.1, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico Aids e DST**. Brasília, Ano VIII, n.1. Brasília, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria No. 151, de 2009. **Fluxograma Mínimo para o Diagnóstico Laboratorial da Infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 18 (dezoito) meses**, Brasília, Distrito Federal. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. **Critérios de definição de casos de aids em adultos e crianças**. Brasília: Ministério da Saúde, 2004. 56p.

BREEN, E.C. Pro- and anti-inflammatory cytokines in human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. **Pharmacology & Therapeutics**, n.95, v.3, p.295-304, 2002.

BRINKMAN, K., SMEITINK, J.A., ROMIJN, J.A., REISS, P. Mitochondrial toxicity induced by nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors is a key factor in the pathogenesis of antiretroviral-therapy-related lipodystrophy. **Lancet**, v.354, v.9184, p.1112-1115, 1999.

BRUCE, K.D., BYRNE, C.D. The metabolic syndrome: common origins of a multifactorial disorder. **Postgraduate Medical Journal**, v.85, n.1009, p.614-621, 2009.

BUTTERFIELD, D.A., CASTEGNA, A., LAUDERBACK, C.M., DRAKE, J. Evidence that amyloid beta-peptide-induced lipid peroxidation and its sequelae in Alzheimer's disease brain contribute to neuronal death. **Neurobiology of Aging**, v.23, n.5, p.655-664, 2002.

BUTTERFIELD, D.A., STADTMAN, E.R. Protein oxidation processes in aging brain. **Advances in Cell Aging and Gerontology**, v.2, p. 161–191, 1997.

BUTTKE, T.M., SANDSTROM, P.A. Oxidative stress as a mediator of apoptosis. **Immunology Today**, v.15, n.1, p.7-10, 1994.

CAIROLI, E., SCOTT-ALGARA, D., PRITSCH, O., DIGHIRO, G., CAYOTA, A. HIV-1 induced decrease of nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase expression during in vivo and in vitro infection. **Clinical Immunology**, v.127, n.1, p.26-33, 2008.

CARR, A., SAMARAS, K., CHISHOLM, D.J., COOPER, D.A. Pathogenesis of HIV-1-protease inhibitor-associated peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia, and insulin resistance. **Lancet**, v.351, n.9119, p.1881-1883, 1998.

CASTEGNA, A., DRAKE, J., POCERNICH, C., BUTTERFIELD, D.A. 18 Protein Carbonyl Levels - An Assessment of Protein Oxidation. In: HENSLEY, K., FLOYD, R.A. **Methods in Pharmacology and Toxicology: methods in biological oxidative stress**, Totawa: Human Press Inc., 2003, p.161-168.

CDC-CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Pneumocystis pneumonia* – Los Angeles. **MMWR - Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.30, n.21, p.250-252, 1981a.

CDC-CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Kaposi's sarcoma and *Pneumocystis pneumonia* among homosexual men – New York City and California. **MMWR - Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.30, n.25, p.305-308, 1981b.

CERRATO, E., CALCAGNO, A., D'ASCENZO, F., BIONDI-ZOCCAI, G., MANCONE, M., GROSSO MARRA, W., DEMARIE, D., OMEDÈ, P., ABBATE, A., BONORA, S., DINICOLANTONIO, J.J., ESTRADA, V., ESCANED, J., MORETTI, C., GAITA, F. Cardiovascular disease in HIV patients: from bench to bedside and backwards. *Open Heart*, v.2, n.1, e000174, 2015. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4368980/pdf/openhrt-2014-000174.pdf>. Acesso em: 28 junho 2015.

CHEN, B., LIAO, W.Q., XU, N., XU, H., WEN, J.Y., YU, C.A., LIU, X.Y., LI, C.L., ZHAO, S.M., CAMPBELL, W. Adiponectin protects against cerebral ischemia-reperfusion injury through anti-inflammatory action. **Brain Research**, v.1273, p. 129-37, 2009.

CHRISTOV, A., HAMDHEYDARI, L., GRAMMAS, P. Detection of reactive oxygen species by flow cytometry. In: HENSLEY, K., FLOYD, R.A. **Methods in Pharmacology and Toxicology: Methods in Biological Oxidative Stress**, Totawa: Human Press Inc., 2003, p.175-183.

CIRCU, M.L., AW, T.Y. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. **Free Radical Biology and Medicine**, v.48, n.6, p. 749-762, 2010.

CLAVEL F, GUETARD D, BRUN-VEZINET F, CHAMARET S, REY MA, SANTOS-FERREIRA MO, et al. Isolation of a new human retroviruses from West African patients with AIDS. **Science**, v.233, n.4761, p. 343-346, 1986.

CLAVEL F, MANSINHO K, CHAMARET S, GUETARD D, FAVIER V, NINA J, et al. Human immunodeficiency virus type 2 infection associated with AIDS in West Africa. **New England Journal of Medicine**, v.316, n.19, p. 1180-1185, 1987.

COFFIN, J., HAASE, A., LEVY, J.A., MONTAGNIER, L., OROSZLAN, S., TEICH, N., TEMIN, H., TOYOSHIMA, K., VARMUS, H., VOGT, P., WEISS, R. Human immunodeficiency viruses. **Science**, v.9, n.4751, p.697, 1986.

COHEN, M.S., CHEN, Y.Q., MCCAULEY, M., GAMBLE, T., HOSSEINIPOUR, M.C., KUMARASAMY, N., HAKIM, J.G., KUMWENDA, J., GRINSZTEJN, B., PILOTTO, J.H., GODBOLE, S.V., MEHENDALE, S., CHARIYALERTSAK, S., SANTOS, B.R., MAYER, K.H., HOFFMAN, I.F., ESHLEMAN, S.H., PIWOWAR-MANNING, E., WANG, L., MAKHEMA, J., MILLS, L.A., DE BRUYN, G., SANNE, I., ERON, J., GALLANT, J., HAVLIR, D., SWINDELL, S.S., RIBAUDO, H., ELHARRAR, V., BURNS, D., TAHA, T.E., NIELSEN-SAINES, K., CELENTANO, D., ESSEX, M., FLEMING, T.R. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. **New England Journal of Medicine**, v. 365, p. 365:493-505, 2011.

COHEN, M.S., GAY, C.L. Treatment to prevent transmission of HIV-1. **Clinical Infectious Diseases**, v.50, suppl.3, p. S85-95, 2010.

COHEN, M.S., SHAW, G.M., McMICHAEL, A.J., HAYNES, B.F. Acute HIV-1 Infection. **New England Journal of Medicine**, v.364, n.20, p.1943-1954, 2011.

DALLE-DONNE, I., ROSSI, R., COLOMBO, R, GIUSTARINI, D., MILZANI, A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. **Clinical Chemistry**, v.52, n.4, p.601-623, 2006.

DAS, M., BORAH, N.C., GHOSE, M., CHOUDHURY, N. Reference ranges for serum uric acid among healthy Assamese people. **Biochemistry Research International**, v.2014, n.171053, 7p, 2014. Disponível em: <file:///C:/Users/Helena/Downloads/171053.pdf>. Acesso em: 24 março 2015.

DAS, U.M., PODMA, M., SOGAR, P.S., RAMESH, G., KORATKAR, R. Stimulation of free radical generation in human leucocytes by various agents including tumor necrosis factor is a calmodulin-dependent process. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.167, n.3, p.1030-1036. 1990.

DEAN, A.G., DEAN, J.A., COULOMBIER, D., BRENDDEL, K.A., SMITH, D.C., BURTON, A.H., DICKER, R.C., SULLIVAN, K., FAGAN, R.F., ARNER, T.G. Epi Info, Version 6: a word-processing database, and statistics program for Public Health on IBM-compatible microcomputers. **Centers for Disease Control and Prevention**. Atlanta, Georgia, USA, 1995.

DETELS, R., MUÑOZ, A., MCFARLANE, G., KINGSLEY, L.A., MARGOLICK, J.B., GIORGI, J., SCHRAGER, L.K., PHAIR, J.P. Effectiveness of potent antiretroviral therapy on time to AIDS and death in men with known HIV infection duration. Multicenter AIDS Cohort Study Investigators. **JAMA**, v.280, n.17, p. 1497-503, 1998.

DI GIORGI, A., FABBIAN, F., PALA, M., TISEO, R., PARISI, C., MISURATI, E., MANFREDINI, R. Uric acid: friend or foe? Uric acid and cognitive function "Gout kills more wise men than simple". **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v.19, n.4, p.640-646, 2015.

DEEKS, S.G., PHILLIPS, A.N. HIV infection, antiretroviral treatment, ageing, and non-AIDS related morbidity. **British Medical Journal**, v.338, a3172, 2009. Disponível em: <<http://cyto.mednet.ucla.edu/biohiv/2013/deeks%20and%20philips%20review.pdf>>. Acesso em: 28 junho 2015.

EVANS, T.G., RASMUSSEN, K., WIEBKE, G., HIBBS, J.B. Nitric oxide synthesis in patients with advanced HIV infection. **Clinical and Experimental Immunology**, v.97, n,1, p.83-86, 1994.

FARHI, L, LIMA, D.B., CUNHA, C.B. Dislipidemia em pacientes HIV/AIDS em uso de anti-retrovirais num hospital universitário. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.44, n.3, p.175-184, 2008.

FARTHING, C.F., BROWN, S.E, STAUGHTON, R.C.D. **Atlas colorido de aids e da doença do HIV**. 2 ed. Rio de Janeiro: Artes Médicas, 1089. 114p.

FERREIRA, A.L.A., CORREA, C.R., FREIRE, C.M.M., MOREIRA, P.L., BERCHIERI-RONCHI, C.B., REIS, R.A.S., NOGUEIRA, C.R. Síndrome metabólica: atualização de critérios diagnósticos e impacto do estresse oxidativo na patogênese. **Revista Brasileira Clínica Médica São Paulo**, v.9, n.1, p. 54-61, 2011.

FERRUCCI, A., NONNEMACHER, M.R., WIGDAHL, B. Human immunodeficiency virus viral protein R as an extracellular protein in neuropathogenesis. **Advances in Virus Research**, v.81, p.165-199, 2011.

FÉVRIER, M., DORGHAM, K., REBOLLO, A. CD4+ T cell depletion in human immunodeficiency virus (HIV) infection: role of apoptosis. **Viruses**, v.3, n.5, p.586-612, 2011.

FRITZ, K.S., PETERSEN, D.R. An overview of the chemistry and biology of reactive aldehydes. **Free Radical Biology & Medicine**, v.59, p.85-91, 2013.

GAAL, L.F.V., DESPRÉS, J.P. Abdominal obesity, dyslipidemia, insulin resistance, type 2 diabetes and atherosclerosis: who is the right patient to be treated with cb1 receptor antagonists? **International Chair on Cardiometabolic Risk**, v.1, n.3, p. 51-56, 2008. Disponível em: <http://www.myhealthywaist.org/cmrejournal/pdf/vol1/v1ia13.pdf> . Acesso em: 1 abril 2015.

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., LEIBOWITZ, 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.

GHAFOURIFAR, P., RICHTER, C. Nitric oxide synthase activity in mitochondria. **FEBS Letters**, v.418, n.3, p.291-296, 1997.

GHISELLI, A., SERAFINI, M., NATELLA, F., SCACCINI, C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. **Free Radical Biology & Medicine**, v.29, n.11, p.1106-1114, 2000

GIROTTI, A.W. Mechanisms of lipid peroxidation. **Free Radical Biology & Medicine**, v.1, n.2, p.87-95, 1985.

GLEZER, I., MARCOURAKIS, T., AVELLAR, M.C.W, GORENSTEIN, C., SCAVONE, C. O fator de transcrição NF- κ B nos mecanismos moleculares de ação de psicofármacos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v.22, n.1, p.26-30, 2000.

GLOIRE, G., LEGRAND-POELS, S., PIETTE, J. NF- κ B activation by reactive oxygen species: fifteen years later. **Biochemical Pharmacology**, v.72, n.11, p.1493-1505, 2006.

GONZALES-FLECHA, B., LLESUY, S., BOVERIS, A. Hydroperoxide-initiated chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver and muscle. **Free Radical Biology & Medicine**, v.10, n.2, p.93-100, 1991.

GOTTLIEB, M.S., SCHROFF, R., SCHANKER, H.M., WEISMAN, J.D., FAN, P.T., WOLF, R.A., SAXON, A. *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. **New England Journal of Medicine**, v.305, n.24, p.1425-1431, 1981.

GOUGEON, M.L., PÉNICAUD, L., FROMENTY, B., LECLERCQ, P., VIARD, J.P., CAPEAU, J. Adipocytes targets and actors in the pathogenesis of HIV-associated lipodystrophy and metabolic alterations. **Antiviral Therapy**, v.9, n.2, p.161-177, 2004.

GROENEVELD, P.H.P., KROON, F.P., NIBBERING, P.H., BRUISTEN, S.M., Van SWIETEN, P.P., Van FURTH, R. Increased production of nitric oxide correlates with viral load and activation of mononuclear phagocytes in HIV-infected patients. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v.28, n.4, p.341-345, 1996.

GRUNDY, S.M., BREWER Jr, H.B., CLEEMAN, J.I., SMITH Jr, S.C., LENFANT, C.; AMERICAN HEART ASSOCIATION; NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. **Circulation**, v.109, n.3, p.433-438, 2004.

GRUNDY, S.M., CLEEMAN, J.I., DANIELS, S.R., DONATO, K.A., ECKEL, R.H., FRANKLIN, B.A., GORDON, D.J., KRAUSS, R.M., SAVAGE, P.J., SMITH Jr, S.C., SPERTUS, J.A., COSTA, F.; AMERICAN HEART ASSOCIATION; NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. **Circulation**, v.112, n.17, p.2735-2752, 2005.

GUEVARA, I., IWANEJKO, J., DEMBIŃSKA-KIEĆ, A., PANKIEWICZ, J., WANAT, A., ANNA, P., GOLABEK, I., BARTUŚ, S., MALCZEWSKA-MALEC, M., SZCZUDLIK, A. Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction. **Clinica Chimica Acta**, v.274, p.177-188, 1998.

GUNNETT, C.A., HEISTAD, D.D., FARACI, F.M. 2003. Gene-targeted mice reveal a critical role for inducible nitric oxide synthase in vascular dysfunction during diabetes. **Stroke**, v.34, n.12, p.2970-2974, 2003.

GUPTA, S., KNIGHT, A.G., LOSSO, B.Y., INGRAM, D.K., KELLER, J.N., BRUCE-KELLER, A.J. Brain injury caused by HIV protease inhibitors: role of lipodystrophy and insulin resistance. **Antiviral Research**, n. 95, v.1, p. 19-29, 2012.

HAFFNER, S.M., MIETTINEN, H., STERN, M.P. The homeostasis model in the San Antonio Heart Study. **Diabetes Care**, v.20, n.7, p.1087-1092, 1997.

HAFFNER, S.M., VALDEZ, R.A., HAZUDA, H.P., MITCHELL, B.D., MORALES, P.A., STERN, M.P. Prospective Analysis of The Insulin-Resistance Syndrome (Syndrome X). **Diabetes**, v.41, n.6, p.715-722, 1992.

HALLIWELL, B. Free Radicals and other reactive species in disease. **Encyclopedia of Life Sciences**, 2001. Disponível em: < http://www.healthiron.com/Websites/healthiron/images/Oxidative_stress.pdf> Acesso em: 20 maio 2015.

HALLIWELL, B. Oxidants and human disease: Some new concepts. **Federation of American Societies for Experimental Biology Journal.**, v.1, n.5, p.358-364, 1987.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C. Detection of free radicals and others reactive species: trapping and fingerprinting. In: HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radical in Biology and Medicine**. 3th ed. Oxford: Oxford University Press, 1999, p.351-429.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radical in Biology and Medicine**. 4th ed. Oxford: Oxford University Press, 2007, 888p.

HARMAN, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. **The Journals of Gerontology**, v.11, n.3, p.298-300, 1956.

HEMKENS, L.G., BUCHER, H.C. HIV infection and cardiovascular disease. *European Heart Journal*, 2014, v.35, n.21, p.1373-1381, 2014

HENSLEY, K., MOU, S., PYE, Q.N. Nitrite determination by colorimetric and fluorometric Griess diazotization assays. In: HENSLEY, K., FLOYD, R.A. **Methods in Pharmacology and Toxicology: methods in biological oxidative stress**, Totawa: Human Press Inc., 2003, p.185-192.

HENSLEY, K., WILLIAMSON, K.S., FLOYD, R.A. Measurement of 3-nitrotyrosine and 5-nitro-gamma-tocopherol by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Free Radical Biology and Medicine**, v.28, n.4, p.520-528, 2000.

HOGG, R.S., YIP, B., KULLY, C., CRAIB, K.J., O'SHAUGHNESSY, M.V., SCHECHTER, M.T., MONTANER, J.S. Improved survival among HIV-infected patients after initiation of triple-drug antiretroviral regimens. **Canadian Medical Association Journal**, v.160, n.5, p. 659-65, 1999.

HOLT, P.G., OLIVER, J., BILYK, N., MCMENAMIN, C., MCMENAMIN, P.G., KRAAL, G., THEPEN, T. Downregulation of the antigen presenting cell function(s) of pulmonary dendritic cells in vivo by resident alveolar macrophages. **Journal of Experimental Medicine**, v.177, n.2, p.397-407, 1993.

HOSHINO, S., KONISHI, M., MORI, M., SHIMURA, M., NISHITANI, C., KUROKI, Y., KOYANAGI, Y., KANO, S., ITABE, H., ISHIZAKA, Y. HIV-1 Vpr induces TLR4/MyD88-mediated IL-6 production and reactivates viral production from latency. **Journal of Leukocyte Biology**, v.87, n.6, p.1133-1143, 2010.

INDUMATI, V., VIJAY, V., SHEKHANAWAR, M.S., RAJESHWARI, M.A., AMARESHWARAS, M., SHANTALA, D. Comparison of serum lipid profile in HIV positive patients on ART with ART naïve patients. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v.8, n.10, p.CC06-CC09, 2014.

ISRAEL, N., GOUGEROT-POCIDALO, M.A. Oxidative stress in human immunodeficiency virus infection. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 53, n.11-12, p. 864-870, 1997.

IVES, N.J., GAZZARD, B.G., EASTERBROOK, P.J. The changing pattern of AIDS-defining illnesses with the introduction of highly active antiretroviral therapy (HAART) in a London clinic. **Journal of Infection**, v.42, n.2, p.134-139, 2001.

JAN, V., CERVERA, P., MAACH, I. M., BAUDRIMONT, M., KIM, M., VIDAL, H., GIRARD, P.M., LEVAN, P., ROZENBAUM, W., LOMBÈS, A., CAPEAU, J., BASTARD, J.P. Altered fat differentiation and adipocytokine expression are inter-related and linked to morphological changes and insulin resistance in HIV-1-infected lipodystrophic patients. **Antiviral Therapy**, v.9, n.4, p.555-564, 2004.

JANTARAPAKDE, J., PHANUPHAK, N., CHATURAWIT, C., PENGNONYANG, S., MATHAJITTIPHAN, P., TAKAMTHA, P., DUNGJUN, N., PINYAKORN, S., PIMA, W., PRASITHSIRIKUL, W., PHANUPHAK, P.. Prevalence of metabolic syndrome among antiretroviral-naïve and antiretroviral-experienced HIV-1 infected Thai adults. **AIDS Patient Care STDS**, v.28, n.7, p.331-340, 2014.

JAWOROWSKI, A., CROWE, S.M. Does HIV cause depletion of CD4⁺ T cells in vivo by the induction of apoptosis? **Immunology and Cell Biology**, v.77, n.1, p.90-98, 1999.

JUNG, T.W., LEE, J.Y., SHIM, W.S., KANG, E.S., KIM, J.S., AHN, C.W., LEE, H.C., CHA, B.S. Adiponectin protects human neuroblastoma SH-SY5Y cells against MPP⁺-induced cytotoxicity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 343, n. 2, p. 564-570, 2006.

KAPLAN, N.M. The Deadly quartet upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. **Archives of Internal Medicine**, v.149, n.7, p.1514-1520, 1989.

KAMOGAWA, K., KOHARA, K., TABARA, Y., UETANI, E., NAGAI, T., YAMAMOTO, M., IGASE, M., MIKI, T. Abdominal fat, adipose-derived hormones and mild cognitive impairment: the J-SHIPP study. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**, v. 30, n.5, p. 432-439, 2010.

KASSI, E., PERVANIDOU, P., KALTSAS, G., CHROUSOS, G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. **BMC Medicine**, v.9, n.48, 13p, 2011. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1741-7015-9-48.pdf> >. Acesso em: 11 abril 2015.

KEANEY Jr., J.F., LARSON, M.G., VASAN, R.S., WILSON, P.W., LIPINSKA, I., COREY, D., MASSARO, J.M., SUTHERLAND, P., VITA, J.A., BENJAMIN, E.J., FRAMINGHAM STUDY. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, n.23, v.3, p.434-439, 2003

KELLY, F.J., MUDWAY, I.S. Protein oxidation at the air-lung interface. **Amino Acids**, v.25, n.3-4, p. 375-396, 2003.

KETLOGETSWE, K.S., POST, W.S., LI, X., PALELLA Jr, F.J., JACOBSON, L.P., MARGOLICK, J.B., KINGSLEY, L.A., WITT, M.D., DOBS, A.S., BUDOFF, M.J., BROWN, T.T. Lower adiponectin is associated with subclinical cardiovascular disease among HIV-infected men. **AIDS**, v.28, n.6, p. 901-909, 2014.

KINLAW, W.B., MARSH, B. Adiponectin and HIV-lipodystrophy: taking HAART. **Endocrinology**, n. 145, v. 2, p. 484-486, 2004.

KISSEBAH, A.H., SONNENBERG, G.E., MYKLEBUST, J., GOLDSTEIN, M., BROMAN, K., JAMES, R.G., MARKS, J.A., KRAKOWER, G.R., JACOB, H.J., WEBER, J., MARTIN, L., BLANGERO, J., COMUZZIE, A.G. Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.97, n.26, p.14478–14483, 2000.

KOTLER, D.P. HIV and antiretroviral therapy: lipid abnormalities and associated cardiovascular risk in HIV-infected patients. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v.49, n.2, p.79-85, 2008.

KOTLER, D.P., ROSENBAUM, K., WANG, J., PIERSON, R.N. Studies of body composition and fat distribution in HIV-infected and control subjects. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v.20, n.3, p.228-237, 1999.

KRISHNAMURTHY, P., WADHWANI, A. Antioxidant enzymes and human health. In: EL-MISSIRY, M.A. **Antioxidant Enzyme**. Croácia: InTech, 2012, p.3-18.

KRUMAN, I.I., NATH, A., MATTSON, M.P. HIV-1 protein Tat induces apoptosis of hippocampal neurons by a mechanism involving caspase activation, calcium overload, and oxidative stress. **Experimental Neurology**, v.154 n.2, p.276-288, 1998.

KUCERA, O., ENDLICHER, R., ROUSAR, T., LOTKOVÁ, H., GARNOL, T., DRAHOTA, Z., CERVINKOVÁ, Z. The effect of tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress on lean and steatotic rat hepatocytes *in vitro*. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.2014, n.752506, 12p, 2014 Disponível em: <file:///C:/Users/Helena/Downloads/752506.pdf>. Acesso em: 23 março 2015.

KYLIN, E. Studien ueber das hypertoniehyperglyka"mie-hyperurika"miesyndrom. **Zentralblatt fuer Innere Medizin**, v.44, p.105-127, 1923.

LANDER, H.M. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. **Federation of American Societies for Experimental Biology**, v.11, n. 2, p. 118-124, 1997.

LANDER, H.M., SEHAIPAL, P., LEVINE, D.M., NOVOGRODSKY, A. Activation of human peripheral blood mononuclear cells by nitric oxide-generating compounds. **The Journal of Immunology**, v.150, n.4, p. 1509-1516, 1993.

LI, R., WANG, W.Q., ZHANG, H., YANG, X.; FAN, Q., CHRISTOPHER, T.A.; LOPEZ, B.L., TAO, L., GOLDSTEIN, B.J., GAO, F., MA, X.L. Adiponectin improves endothelial function in hyperlipidemic rats by reducing oxidative/nitrative stress and differential regulation of eNOS/iNOS activity. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v.293, n.6, p. E1703-E1708, 2007.

LIPKOWITZ, M.S. Regulation of uric acid excretion by the kidney. **Current Rheumatology Reports**, v.14, n.2, p.179-188, 2012.

LOHSE, N., HANSEN, A.B., PEDERSEN, G., KRONBORG, G., GERSTOFT, J., SORENSEN, H.T., VAETH, M., OBEL, N. Survival of persons with and without HIV infection in Denmark, 1995-2005. **Annals of Internal Medicine**, v.146, n.2, p.87-95, 2007.

LOPEZ, O., BONNEFONT-ROUSSELOT, D., MOLLEREAU, M., OLIVIER, R., MONTAGNIER, L., EMERIT, J., GENTILINI, M., DELATTRE, J. Increased plasma thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) before opportunistic infection symptoms in HIV infected individuals. **Clinica Chimica Acta**, v.247, n.1-2, p.181-187, 1996.

LOZOVYOY, M.A., SIMÃO, A.N., PANIS, C., ROTTER, M.A., REICHE, E.M., MORIMOTO, H.K., LAVADO, E., CECCHINI, R., DICHI, I. Oxidative stress is associated with liver damage, inflammatory status, and corticosteroid therapy in patients with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v.20, n.12, p.1250-1259, 2011.

LUNDGREN, J.D., BATTEGAY, M., BEHRENS, G., DE WIT, S., GUARALDI, G., KATLAMA, C., MARTINEZ, E., NAIR, D., POWDERLY, W.G., REISS, P., SUTINEN, J., VIGANO, A.; EACS EXECUTIVE COMMITTEE. European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines on the prevention and management of metabolic diseases in HIV. **HIV Medicine**, v.9, n.2, p.72-81, 2008.

MAESAKA, J.K., FISHBANE, S. Regulation of renal urate excretion: a critical review. **American Journal of Kidney Diseases**, v.32, n.6, p.917-933, 1998.

MALVY, D.J., RICHARD, M.J., ARNAUD, J., FAVIER, A., AMÉDÉE-MANESME, O. Relationship of plasma malondialdehyde, vitamin E and antioxidant micronutrients to human immunodeficiency virus-1 seropositivity. **Clinica Chimica Acta**, v.24, n.1, p.89-94, 1994.

MANNICK, J.B. The antiviral role of nitric oxide. **Research Immunology**, v.146, n.9, p.693-697, 1995.

MARNETT, L.J. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v.424, n.1-2, p.83-95, 1999.

MARTÍN-GALLÁN, P., CARRASCOSA, A., GUSSINYÉ, M., DOMÍNGUEZ, C. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications. **Free Radical Biology and Medicine**, v.34, n.12, p.1563-1574, 2003.

MASAKI, T., ANAN, F., SHIMOMURA, T., FUJIKI, M., SAIKAWA, T., YOSHIMATSU, H. Association between hippocampal volume and serum adiponectin in patients with type 2 diabetes mellitus. **Metabolism**, v.61, n.8, p.1197-1200, 2012.

MAXWELL, S.R., JAKEMAN, P., THOMASON, H., LEGUEN, C., THORPE, G.H. Changes in plasma antioxidant status during eccentric exercise and the effect of vitamin supplementation. **Free Radical Research Communications**, v.19, n. 3, p.191-202, 1993.

McCORD, J.M., FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). **The Journal of Biological Chemistry**, v.244, n.22, p.6049-6055, 1969.

MITTAL, C.K., MURAD, F. Activation of guanylate cyclase by superoxide dismutase and hydroxyl radical: a physiological regulator of guanosine 3',5'-monophosphate formation. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 74, n.10, p.4360-4364, 1977.

MOLLACE, V., NOTTET, H.S., CLAYETTE, P., TURCO, M.C., MUSCOLI, C., SALVEMINI, D., PERNO, C.F. Oxidative stress and neuroAIDS: triggers, modulators and novel antioxidants. **Trends in Neurosciences**, v.24, n.27, p.411-416, 2001.

MOLLACE, V., SALVEMINI, D., RILEY, D.P., MUSCOLI, C., IANNONE, M., GRANATO, T., MASUELLI, L., MODESTI, A., ROTIROTI, D., NISTICÓ, R., BERTOLI, A., PERNO, C.F., AQUARO, S. The contribution of oxidative stress in apoptosis of human-cultured astroglial cells induced by supernatants of HIV-1-infected macrophages. **Journal of Leukocyte Biology**, v.71, n.1, p.65-72, 2002

MOTTILLO, S., FILION, K.B., GENEST, J., JOSEPH, L., PILOTE, L., POIRIER, P., RINFRET, S., SCHIFFRIN, E.L., EISENBERG, M.J. The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. **Journal of the American College of Cardiology**, v.56, n.14, p.1113-1132, 2010.

MYNARCIK, D.C., McNURLAN, M.A., STEIGBIGEL, R.T., FUHRER, J., GELATO, M.C. Association of severe insulin resistance with both loss of limb fat and elevated serum tumor necrosis factor receptor levels in HIV lipodystrophy. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v.25, n.4, p.312-321, 2000.

NAKANO, Y., TOBE, T., CHOI-MIURA, N.H., MAZDA, T., TOMITA, M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. **Journal of Biochemistry**, v.120, n. 4, p.803-812, 1996.

NATHAN, C. Inducible nitric oxide synthase: what difference does it make? **The Journal of Clinical Investigation**, v.100, n.10, p. 2417-2423, 1997.

NAVARRO-GONZALVEZ JA, GARCIA-BENAYAS C, ARENAS J. Semi-automated measurement of nitrate in biological fluids. **Clinical Chemistry**, v.44, p.679-681, 1998.

NAVIA, B.A., JORDAN, B.D., PRICE, R.W. The AIDS dementia complex: I. Clinical features. **Annals of Neurology**, v.19, n.6, p.517-524, 1986.

NAKAMURA, H., MASUTANI, H., YODOI, J.. Redox imbalance and its control in HIV infection. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.4, n.3, p.455-464, 2002.

NEW, D.R., MAGGIRWAR, S.B., EPSTEIN, L.G., DEWHURST, S., GELBARD, H.A. HIV-1 Tat induces neuronal death via tumor necrosis factor-alpha and activation of non-N-methyl-D-aspartate receptors by a NF kappa B-independent mechanism. **The Journal of Biological Chemistry**, v.273, n.28, p.17852-17858, 1998.

NGONDI JL, OBEN J, ETAME LH, FORKAH DM, MBANYA D. The effect of different combination therapies on oxidative markers in HIV infected patients in Cameroon. **AIDS Research Therapy**, v.3, p.19, 2006.

NOOR, M.A., LO, J.C., MULLIGAN, K., SCWARZ, J.M., HALVORSEN, R.A., SCHAMBELAN, M., GRUNFELD, C. Metabolic effects of indinavir in healthy HIV-seronegative men. **AIDS**, v.15, n.7. p.F11–F18, 2001.

OKOYE, A.A., PICKER, L.J. CD4(+) T-cell depletion in HIV infection: mechanisms of immunological failure. **Immunological Reviews**, v.254, n.1, p.54-64, 2013.

OUCHI, N., KIHARA, S., ARITA, Y., OKAMOTO, Y., MAEDA, K., KURIYAMA, H., HOTTA, K., NISHIDA, M., TAKAHASHI, M., MURAGUCHI, M., OHMOTO, Y., NAKAMURA, T., YAMASHITA, S., FUNAHASHI, T., MATSUZAWA, Y. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappa B signaling through a cAMP-dependent pathway. **Circulation**, v.102, n.11, p.1296-301, 2000.

OUEDRAOGO, R., GONG, Y., BERZINS, B., WU, X., MAHADEV, K., HOUGH, K., CHAN, L., GOLDSTEIN, B.J., SCALIA, R. Adiponectin deficiency increases leukocyte-endothelium interactions via upregulation of endothelial cell adhesion molecules in vivo. **The Journal of Clinical Investigation**, v.117, n.6, p.1718-1726, 2007.

PALELLA Jr, F.J., DELANEY, K.M., MOORMAN, A.C., LOVELESS, M.O., FUHRER, J., SATTEN, G.A., ASCHMAN, D.J., HOLMBERG, S.D. Declining morbidity and mortality

among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV outpatient study investigators. **New England Journal of Medicine**, v.338, n.13, p. 853-860, 1998.

PANIS, C., LEMOS, L.G., VICTORINO, V.J., HERRERA, A.C., CAMPOS, F.C., COLADO SIMÃO, A.N., PINGE-FILHO, P., CECCHINI, A.L., CECCHINI R. Immunological effects of taxol and adriamycin in breast cancer patients. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v.61, n.4, p.481-488, 2011.

PARK, W.B., CHOE, P.G., JO, J.H., KIM, S.H., BANG, J.H., KIM, H.B., KIM, N.J., OH, M.D., CHOE, K.W. Tuberculosis manifested by immune reconstitution inflammatory syndrome during HAART. **AIDS**, v.21, n.7, p.875-877, 2007.

PATEL, R.P., MCANDREW, J., SELLAKE, H., WHITE, C.R., JO, H., FREEMAN, B.A., DARLEY-USMAR, V.M. Biological aspects of reactive nitrogen species. **Biochimica et Biophysica Acta.**, v.1411, n.2-3, p.385-400, 1999.

PAULA, A. A., FALCÃO, M.C., PACHECO, A.G. Metabolic syndrome in HIV-infected individuals: underlying mechanisms and epidemiological aspects. **AIDS Research and Therapy**, v.10, n.1, 8p, 2013. Disponível em: < <http://www.aidsrestherapy.com/content/pdf/1742-6405-10-32.pdf>>. Acesso em 4 abril 2015.

PEPPING, J.K., OTVOS Jr., L., SURMACZ, E., GUPTA, S., KELLER, J.N., BRUCE-KELLER, A.J. Designer adiponectin receptor agonist stabilizes metabolic function and prevents brain injury caused by HIV protease inhibitors. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**. v.9, n.3, p.388-98, 2014.

PÉREZ-MATUTE, P., PÉREZ-MARTÍNEZ, L., BLANCO, J.R., OTEO, J.A. Role of mitochondria in HIV infection and associated metabolic disorders: focus on nonalcoholic fatty liver disease and lipodystrophy syndrome. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.2013, n.493413, 13p, 2013. Disponível em: < <http://www.hindawi.com/journals/omcl/2013/493413/>>. Acesso em 11 abril 2015.

PERL, A., BANKI, K. Genetic and metabolic control of the mitochondrial transmembrane potential and reactive oxygen intermediate production in HIV disease. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 2, n.3, p.551-573, 2000.

PIETRAFORTE D, TRITARELLI E, TESTA U, MINETTI M. Gp 120 HIV envelope glycoprotein increases the production of nitric oxide in human monocyte-derived macrophages. **Journal of Leukocyte Biology**, v.55, n.2, p.175-182, 1994.

PIWOWAR, A., KNAPIK-KORDECKA, M., WARWAS, M. Markers of oxidative protein damage in plasma and urine of type 2 diabetic patients. **British Journal of Biomedical Science**, v.66, n.4, p.194-199, 2009.

POCERNICH, C.B., SULTANA, R., MOHMMAD-ABDUL, H., NATH, A., BUTTERFIELD, D.A. HIV-dementia, Tat-induced oxidative stress, and antioxidant therapeutic considerations. **Brain Research Reviews**, v.50, n.1, p.14-26, 2005.

POLI, G., LEONARDDUZZI, G., BIASI, F., CHIARPOTTO, E. Oxidative stress and cell signaling. **Current Medicinal Chemistry**. v. 11, n. 9, p. 1163-1182, 2004.

PURNELL, J.Q., ZAMBON, A., KNOPP, R.H., PIZZUTI, D.J., ACHARI, R., LEONRAD, J.M., LOCKE, C., BRUNZELL, J.D. Effect of ritonavir on lipids and post-heparin lipase activities in normal subjects. **AIDS**, v.14, n.1, p.51-57, 2000.

PYO, C.W., YANG, Y. L., YOO, N.K., CHOI, S.Y. Reactive oxygen species activate HIV long terminal repeat via post-translational control of NF-Kappa B. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.376, n.1, p.180-185, 2008.

RACHID, M., SCHECHTER, M. **Manual de HIV/Aids**. 9. ed. Rio de janeiro: Editora Revinter, 2008. 222p.

RADI, R. Nitric oxide, oxidants, and protein tyrosine nitration. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v.101, n.12, p.4003-4008, 2004.

RAKOTOAMBININA, B., MÉDIONI, J., RABIAN, C., JUBAULT, V., JAIS, J.P., VIARD, J.P. Lipodystrophic syndromes and hyperlipidemia in a cohort of HIV-1-infected patients receiving triple combination antiretroviral therapy with a protease inhibitor. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v.27, n.5, p.443-449, 2001.

REAVEN, G.M. Role of Insulin resistance in human disease. **Diabetes**. v.37, n.12, p.1595-1607, 1988.

REICHE, E.M.V., MORIMOTO, H.K., ALMEIDA, E.R.D., OLIVEIRA, S.Y., KALLAUR, A.P., SIMÃO, A.N.C. Oxidative stress and human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection In: DICHI, I., BREGANÓ, J.W., SIMÃO, A.N.C., CECCHINI, R. **Role of oxidative stress chronic diseases**, Flórida: CRC Press, 2014, p.45-89.

REPETTO, M., REIDES, C., GOMES-CARRETERO, M.L., COSTA, M. GRIEMBERG, G., LLESUY, S. Oxidative stress in blood of HIV infected patients. **Clinica Chimica Acta**, v. 255, n.2, p.107-117, 1996.

RESHI, M.L., SU, Y, HONG, J. RNA viruses: ROS-mediated cell death. **International Journal of Cell Biology**, n. 467452, 2014. Disponível em: < <http://www.hindawi.com/journals/ijcb/2014/467452/> >. Acesso em: 23 março 2015.

ROCHA, V.Z., LIBBY, P. The multiple facets of the fat tissue. **Thyroid**. v.18, n.2, p.175-183, 2008.

ROM, I., DESHMANE, S.L., MUKERJEE, R., KHALILI, K., AMINI, S., SAWAYA, B.E. HIV-1 Vpr deregulates calcium secretion in neural cells. **Brain Research**, v.1275, p.81-86, 2009

SABBAH E.N., ROQUES, B.P. Critical implication of the (70-96) domain of human immunodeficiency virus type 1 Vpr protein in apoptosis of primary rat cortical and striatal neurons. **Journal of Neurovirology**, v.11, n, 6, p.489-502, 2005.

SAINT-MARC, T., PARTISANI, M., POIZOT-MARTIN, I., BRUNO, F., ROUVIERE, O., LANG, J.M., GASTAUT, J.A., TOURAINÉ, J.L. A syndrome of peripheral fat wasting (lipodystrophy) in patients receiving long-term nucleoside analogue therapy. **AIDS**, v.13, n.13, p.1659-1667, 1999.

SAMARAS, K., WAND, H., LAW, M., EMERY, S., COOPER, D., CARR, A. Prevalence of metabolic syndrome in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy using International Diabetes Foundation and Adult Treatment Panel III criteria: associations with insulin resistance, disturbed body fat compartmentalization, elevated C-reactive protein, and [corrected] hypoadiponectinemia. **Diabetes Care**, v.30, n.1, p.113-119, 2007.

SCHULZE-OSTHOFF K, BAKKER AC, VANHAESEBROECK B, BEYAERT R, JACOB WA, FIERS W. 1992. Cytotoxic activity of tumor necrosis factor is mediated by early damage of mitochondrial functions. Evidence for the involvement of mitochondrial radical generation. **The Journal of Biological Chemistry**, v.267, n.8, p.5317-5323, 1992.

SCHWARZ, K. B. Oxidative stress during viral infection: a review. **Free Radical Biology & Medicine**, v.21, n.5, p. 641-649, 1996.

SEVE, M., FAVIER, A., OSMAN, M., HERNANDEZ, D., VAITAITIS, G., FLORES, N.C., MCCORD, J.M., FLORES, S.C. The human immunodeficiency virus-1 Tat protein increases cell proliferation, alters sensitivity to zinc chelator-induced apoptosis, and changes Sp1 DNA binding in HeLa cells. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.361, n.2, p. 165-172, 1999.

SHACTER, E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. **Drug Metabolism Reviews**, v.32, n.3-4, p.307-326, 2000.

SHARMA, B. Oxidative stress in HIV patients receiving antiretroviral therapy. **Current HIV Research**, v.12, n.1, p. 13-21, 2014.

SHI, B., RAINA, J., LORENZO, A., BUSCIGLIO, J., GABUZDA, D. Neuronal apoptosis induced by HIV-1 Tat protein and TNF-alpha: potentiation of neurotoxicity mediated by oxidative stress and implications for HIV-1 dementia. **Journal of Neurovirology**, v.4, n.3, p.281-290, 1998.

SHI, X.Y., HOU, F.F., NIU, H.X., WANG, G.B., XIE, D., GUO, Z.J., ZHOU, Z.M., YANG, F., TIAN, J.W., ZHANG, X. Advanced oxidation protein products promote inflammation in diabetic kidney through activation of renal nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase. **Endocrinology**, v.149, n.4, p.1829-1839, 2008.

SIES, H. Total antioxidant capacity: appraisal of a concept. **Journal Nutrition**, v.137, n.6, p.1493-1495, 2007.

SKALICKY, J., MUZAKOVA, V., KANDAR, R., MELOUN, M., ROUSAR, T., PALICKA, V. Evaluation of oxidative stress and inflammation in obese adults with metabolic syndrome. **Clin Chem Lab Med**, v.46, p.499–505, 2008.

SIMAO, A.N., LOZOVY, M.A., DICHI, I. The uric acid metabolism pathway as a therapeutic target in hyperuricemia related to metabolic syndrome. **Expert Opin Ther Targets**, v. 16, p. 1175–1187, 2012

SIMÃO, A.N.C; GODENY, P.; LOZOVY, M.A.B., DICHI, J.B., DICHI, I. Efeito dos ácidos graxos n-3 no perfil glicêmico e lipídico, no estresse oxidativo e na capacidade antioxidante total de pacientes com síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.54, n.5, p.1-7, 2010.

SO, A., THORENS, B. Uric acid transport and disease. **Journal of Clinical Investigation**, v.120, n.6, p.1791-1799, 2010.

SPRIETSMA, J.E. Zinc-controlled Th1/Th2 switch significantly determines development of diseases. **Medical Hypotheses**, v. 49, n.1, p.1–14, 1997.

STEINBRENNER, H., SIES, H. Protection against reactive oxygen species by selenoproteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1790, n.11, p.1478-1485, 2009.

STEPHENSON, C.B., MARQUIS, G.S., DOUGLAS, S.D., WILSON, C.M. Immune activation and oxidative damage in HIV-positive and HIV-negative adolescents. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v.38, n.2, p.180-190, 2005.

SCHWARZ, K.B. 1996. Oxidative stress during viral infection: a review. **Free Radical Biology & Medicine**, v.21, n.5, p. 641-649, 1996.

TAO, L., GAO, E., JIAO, X., YUAN, Y., LI, S.; CHRISTOPHER, T.A., LOPEZ, B.L., KOCH, W., CHAN, L., GOLDSTEIN, B.J., MA, X.L. Adiponectin cardioprotection after myocardial ischemia/reperfusion involves the reduction of oxidative/nitrative stress. **Circulation**, v.115, n.11, p.1408-1416, 2007.

TEDALDI, E.M., ABSALON, J., THOMAS, A.J., SHLAY, J.C., Van den BERG-WOLF, M. Ethnicity, race, and gender. Differences in serious adverse events among participants in an antiretroviral initiation trial: results of CPCRA 058 (FIRST Study). **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v.47, n.4, p.441-48, 2008.

TOBOREK, M., LEE, Y.W., PU, H., MALECKI, A., FLORA, G., GARRIDO, R., HENNIG, B., BAUER, H.C., NATH, A. HIV-Tat protein induces oxidative and inflammatory pathways in brain endothelium. **Journal of Neurochemistry**, v.84, n.1, p.169-179, 2003.

TORRE, D., FERRARIO, G., SPERANZA, F., MARTEGANI, R., ZEROLI, C. Increased levels of nitrite in the sera of children infected with human immunodeficiency virus type 1. **Clinical Infectious Diseases**, v.22, n.4, p.650-653, 1996a.

TORRE, D., FERRARIO, G., SPERANZA, F., ORANI, A., FIORI, G.P., ZEROLI, C. Serum concentrations of nitrite in patients with HIV-1 infection. **Journal of Clinical Pathology**, v.49, n.7, p.574-576, 1996b.

TORRE, D.; PUGLIESE, A., SPERANZA, F. Role of nitric oxide in HIV-1 infection: friend or foe. **Lancet Infectious Diseases**, v.2, n.5, p.273-280, 2002.

TREITINGER, A., SPADA, C., VERDI, J.C., MIRANDA, A.F., OLIVEIRA, O.V., SILVEIRA, M.V., MORIEL, P., ABDALLA, D.S. Decreased antioxidant defense in individuals infected by the human immunodeficiency virus. **European Journal of Clinical Investigation**, v.30, n.5, p.454-459, 2000.

UNAIDS 2000. **REPORT June 2000 HIV/AIDS epidemic on the global**. Disponível em: <http://data.unaids.org/pub/report/2000/2000_gr_en.pdf>. Acesso em: 16 Março 2015.

UNAIDS 2014. **Fact sheet 2014**. Disponível em:<http://www.unaids.org/sites/default/files/en/media/unaid/contentassets/documents/factsheet/2014/20140716_FactSheet_en.pdf>. Acesso em: 16 Março 2015.

URAKAWA, H., KATSUKI, A., SUMIDA, Y., GABAZZA, E.C., MURASHIMA, S., MORIOKA, K., MARUYAMA, N., KITAGAWA, N., TANAKA, T., HORI, Y., NAKATANI, K., YANO, Y., ADACHI, Y. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.88, n.10, p.4673-4676, 2003.

VALENTE, A.M.M., REIS, A.F., MACHADO, D.M., SUCCI, R.C.M., CHACRA, A.R. Alterações metabólicas da síndrome lipodistrófica do HIV. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabolismo**, v.49, n.6, p.871-881, 2005.

VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOL, J., CRONIN, M.T.D., MAZUR, M., TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n.1, p.44-84, 2007.

VALKO, M., RHODES, C.J., MONCOL, J., IZAKOVIC, M., MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico Biological Interactions**, v.160, n.1, p.1-40, 2006.

Van WIJK, J.P.H., CABEZAS, M.C. Hypertriglyceridemia, metabolic syndrome, and cardiovascular disease in HIV-Infected patients: Effects of antiretroviral therapy and adipose tissue distribution. **International Journal of Vascular Medicine**, v.2012. n. ID201027, 13p, 2012. Disponível em: <file:///C:/Users/Helena/Downloads/201027.pdf>. Acesso em 3 abril 2015.

VANELLA, A., DI GIACOMO, C., SORRENTI, V., RUSSO, A., CASTORINA, C., CAMPISI, A., RENIS, M., PEREZ-POLO, J.R. Free radical scavenger depletion in post-ischemic reperfusion brain damage. **Neurochemical Research**, v.18, n.12, p.1337-1340, 1993.

VASCONCELOS, S.M.L.; GOULART, M.O.F.; MOURA, J.B.F. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n.5, p.1323-1338, 2007.

VELOSO, S., ESCOTÉ, X., CEPERUELO-MALLAFRÉ, V., LÓPEZ-DUPLA, M., PERAIRE, J., VILADÉS, C., DOMINGO, P., CASTRO, A., OLONA, M., SIRVENT, J.J., LEAL, M., VENDRELL, J., RICHART, C., VIDAL, F. Leptin and adiponectin, but not IL18, are related with insulin resistance in treated HIV-1-infected patients with lipodystrophy. **Cytokine**, v.58, n.2, p.253-260, 2012.

VENTURINI, D., SIMAO, A.N., SCRIPES, N.A., BAHLS, L.D., MELO, P.A.S., BELINETTI, F.M., LOZOVYOY, M.A., DICHI, I. Evaluation of oxidative stress in overweight subjects with or without metabolic syndrome. **Obesity**, v.20, p. 2361–2366, 2012.

VERONESI R, MAZZA CC, SANTOS FERREIRA MO, LOURENCO MH. HIV-2 in Brazil. **Lancet**, v.2, n.8555, p.402, 1987.

VIGOUROUX, C., GHARAKHANIAN, S., SALHI, Y., NGUYEN, T.H., CHEVENNE, D., CAPEAU, J., ROZENBAUM, W. Diabetes, insulin resistance and dyslipidaemia in lipodystrophic HIV-infected patients on highly active antiretroviral therapy (HAART). **Diabetes & Metabolism**, v.25, n.3, p.225-232, 1999.

IONNET, N., HANI, E., DUPONT, S., GALLINA, S., FRANCKE, S., DOTTE, S., DE MATOS, F., DURAND, E., LEPRETRE, F., LECOEUR, C., GALLINA, P., ZEKIRI, L., DINA, C., FROGUEL, P. Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. **The American Journal of Human Genetics**, v.67, n.6, p.1470-1480, 2000.

ZANGERLE R, FUCHS D, REIBNEGGER G, WERNER-FELMAYER G, GALLATI H, WACHTER H, WERNER ER. 1995. Serum nitrite plus nitrate in infection with human immunodeficiency virus type 1. **Immunobiology**, v.193, n.1, p.59-70, 1995.

WAYNER, D.D., BURTON, G.W., INGOLD, K.U., LOCKE, S. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. The important contribution made by plasma proteins. **FEBS Letters**, v.187, n.1, p.33-37, 1985.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children**, France: WHO Press, 2007, 50p.

WITKO-SARSAT, V., FRIEDLANDER, M., CAPELLÈRE-BLANDIN, C., NGUYEN-KHOA, T., NGUYEN, A.T., ZINGRAFF, J., JUNGERS, P., DESCAMPS-LATSCHA, B. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. **Kidney International**, v.49, n.5, p.1304-1313, 1996.

WITKO-SARSAT, V., FRIEDLANDER, M., NGUYEN KHOA, T., CAPELLÈRE-BLANDIN, C., NGUYEN, A.T., CANTELOUP, S., DAYER, J.M., JUNGERS, P., DRÜEKE, T., DESCAMPS-LATSCHA, B. Advanced oxidation protein products as novel mediators of

inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. **The Journal of Immunology**, v.161, n.5, p.2524-2532, 1998.

WONG, G.H., MCHUGH, T., WEBER, R., GOEDEL, D.V. Tumor necrosis factor alpha selectively sensitizes human immunodeficiency virus-infected cells to heat and radiation. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v.88, n.10, p.4372-4376, 1991.

WU, X., WAKAMIYA, M., VAISHNAV, S., GESKE, R., MONTGOMERY Jr, C., JONES, P., BRADLEY, A., CASKEY, C.T. Hyperuricemia and urate nephropathy in urate oxidase deficient mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 1, n.2, p.742-746, 1994.

YAMAGUCHI, Y., YOSHIKAWA, N., KAGOTA, S., NAKAMURA, K., HAGINAKA, J., KUNITOMO, M. Elevated circulating levels of markers of oxidative-nitrative stress and inflammation in a genetic rat model of metabolic syndrome. **Nitric Oxide**, v.15, n.4, p. 380-386, 2006.

YAMASHITA ,S., MATSUZAWA, Y., TOKUNAGA, K., FUJIOKA, S., TARUI, S. Studies on the impaired metabolism of uric acid in obese subjects: marked reduction of renal urate excretion and its improvement by a low-calorie diet. **International Journal of Obesity**, v.10, n.4, p.255-264, 1986.

YEUM, K.J., RUSSELL, R.M., ALDINI, G. Antioxidant activity and oxidative stress: an overview. In: ALDINI, G., YEUM, K.J., NIKI, E., RUSSELL, R.M. **Biomarkers for Antioxidant Defense and Oxidative Damage: Principles and Practical Applications**, Wiley-Backwell, 2011, p.3-19.

YIN, H., XU, L., PORTER, N.A. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. **Chemical Reviews**, v.111, n.10, p.5944–5972, 2011.

YOSHIKAWA, T., NAITO, Y. What Is Oxidative Stress? **Japan Medical Association Journal**, v.45, n.7, p. 271-276, 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Por favor, leia cuidadosamente este consentimento e não hesite em perguntar sobre qualquer dúvida que tenha.

Você está sendo convidado (a) a participar, voluntariamente, de um projeto de pesquisa com o título “Avaliação das alterações metabólicas, do estresse oxidativo e do polimorfismo genético do receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLR) em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1), atendidos em Londrina e região, Paraná”, coordenado pela professora Dra. Edna Maria Vissoci Reiche e com a participação de outros docentes pesquisadores da Universidade Estadual de Londrina. Cabe ao senhor (a) decidir se pretende participar ou não. Caso não tenha condições de ler e/ou compreender as informações contidas neste termo, o mesmo poderá ser assinado e datado por um membro da sua família ou responsável legal.

Você está tendo a opção de participar de uma pesquisa que tem o objetivo de saber quantos pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) apresentam alterações nos níveis de gordura no sangue, se esta alteração é em decorrência do uso de medicamentos antirretrovirais e a análise de um fator genético associado às alterações nos níveis de lipídeos (dislipidemias) como o gene do receptor da lipoproteína de baixa densidade (LDL), conhecido como o “colesterol ruim”. Para participar do projeto, será necessária a coleta dos dados como peso, altura e cálculo do índice de massa corpórea ($IMC = \text{peso}/\text{altura}^2$); circunferência abdominal e medida de pressão arterial. Também será necessária a coleta uma pequena amostra de sangue para realização das provas bioquímicas (colesterol, glicose, insulina, ácido úrico e avaliação do estresse oxidativo) e genéticas (gene do receptor do LDL). A coleta dos dados e da amostra de sangue será efetuada no mesmo dia em que o senhor (a) será atendido pelo serviço especializado para a realização dos exames de rotina do monitoramento do seu tratamento. Não haverá necessidade de agendar outros dias para coletas específicas para este projeto de pesquisa.

Os dados pessoais fornecidos e os resultados do exame realizado serão mantidos sob sigilo e somente serão utilizados para fins de pesquisa. Durante todas as etapas do projeto, os participantes serão identificados por um número codificado que será utilizado nas análises posteriores para garantir a preservação da integridade do indivíduo, garantir o anonimato e evitar a quebra de confidencialidade. Ao final do projeto, os resultados serão divulgados em forma de artigos científicos e comunicações em eventos científicos, sempre mantendo o sigilo da identidade dos participantes e as amostras de material biológico coletadas serão descartadas em local apropriado de descarte de material biológico (sangue, soro, plasma e DNA) dos laboratórios envolvidos, seguindo as normas de biossegurança padronizada no Hospital Universitário.

Declara que está completamente esclarecido sobre a forma como a pesquisa será realizada, não tenho nenhuma dúvida sobre sua natureza e os procedimentos, sem risco, aos quais será submetido. Declara também que está ciente de que sua participação é voluntária, de que será informado sobre os resultados dos exames realizados, de não terá nenhum ônus e de que poderá se recusar ou abandonar a pesquisa em qualquer momento sem que haja penalização ou prejuízo algum para seu atendimento e tratamento. Está ciente também que o seu tratamento continuará sendo conduzido pelo seu médico e que nenhum pagamento ou benefício será feito ao participante ou aos familiares pela participação no presente estudo.

Eu estou disposto a participar dessa pesquisa e compreendi as condições acima descritas, concordo voluntariamente a participar desse estudo.

Assinaturas

Paciente ou representante legal (caso o paciente esteja impossibilitado de assinar ou compreender o conteúdo deste TCLE)

Nome: _____
Assinatura: _____
Local e data: Londrina, _____

Profissional que obteve o TCLE

Nome: _____
Assinatura: _____
Local e data: Londrina, _____

Pesquisador responsável: Nome: Professora Dra. Edna Maria Vissoci Reiche

Endereço: Departamento de Patologia, Análises Clínicas do Centro de Ciências da Saúde, Hospital Universitário de Londrina.
Av. Robert Koch, 60, Vila Operária, CEP 86038-440 Fone: 43-3371-2321 ou 43-3371-2670

Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina Fone: 43-3371-2490

APÊNDICE B – Questionário**FICHA DE AVALIAÇÃO**

Nome:	Prontuário:
Data de nascimento:	() Branco () Negro () Amarelo () Pardo
Idade:	
Telefone casa:	Cel:
Medicamentos: () ARV () Regular () Irregular	Bebida Alcoolica () Sim () Não () 1 vez (semana) () 2 vezes (semana) () 3 vezes (semana) () mais de 3 vezes (semana)
Outras doenças:	

Fumante:	() Sim () Não Quantos:
Peso	
Altura	
IMC	
Pressão Arterial	

Circunferência Abdominal	
Atividade Física: <input type="checkbox"/> 1 vez <input type="checkbox"/> 2 Vezes <input type="checkbox"/> 3 Vezes <input type="checkbox"/> Mais Vezes	

ANEXO

Anexo A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS
 Universidade Estadual de Londrina/ Hospital Universitário Regional Norte do Paraná
 Registro CONEP 268

Parecer PF N°. 264/09 CAAE N°. 0206.0.268.000-09 FOLHA DE ROSTO N°. 306199	Londrina, 20 de abril de 2010.
--	--------------------------------

PESQUISADORA: EDNA MARIA VISSOCI REICHE
CCS/PAC

Prezada Senhora:

O “Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina/ Hospital Universitário Regional Norte do Paraná” (Registro CONEP 268)– de acordo com as orientações da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS e Resoluções Complementares, avaliou o projeto:

“AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS DO ESTRESSE OXIDATIVO E DO POLIMORFISMO GENÉTICO DO RECEPTOR DE LIPOPROTEÍNA DE BAIXA DENSIDADE (LDLR) EM PACIENTES INFECTADOS PELOS VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA TIPO 1 (HIV-1), ATENDIDOS EM LONDRINA E REGIÃO, PARANÁ”

Situação do Projeto: **APROVADO**

Informamos que deverá ser comunicada, por escrito, qualquer modificação que ocorra no desenvolvimento da pesquisa, bem como deverá apresentar ao CEP/UEL relatório final da pesquisa.

Atenciosamente,

Prof.ª. Dra. Alexandrina Aparecida Maciel

Coordenadora
Comitê de Ética em Pesquisa-CEP/UEL