

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS - DEPARTAMENTO DE
ALIMENTOS E NUTRIÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS NUTRICIONAIS**

LÍGIA MORIGUCHI WATANABE

**INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO PELO HIV E DO USO DA TERAPIA
ANTIRRETROVIRAL NAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO,
SELENOMETIONINA E PROTEÇÃO ANTIOXIDANTE**

Araraquara

2015

LÍGIA MORIGUCHI WATANABE

Influência da infecção pelo HIV e do uso da terapia antirretroviral nas concentrações de selênio, selenometionina e proteção antioxidante

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista – UNESP para a obtenção do título de Mestre em Ciências Nutricionais

Orientador: Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro.

Araraquara

2015

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

W324i Watanabe, Lígia Moriguchi
Influência da infecção pelo HIV e do uso da terapia antirretroviral nas concentrações de selênio, selenometionina e proteção antioxidante / Lígia Moriguchi Watanabe. — Araraquara, 2015
59 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição

Orientador: Anderson Marliere Navarro

1. HIV. 2. Terapia antirretroviral. 3. Selênio. I. Navarro, Anderson Marliere, orient. II. Título.

CAPES: 50700006

WATANABE, LÍGIA MORIGUCHI

Influência da infecção pelo HIV e do uso da terapia antirretroviral nas concentrações de selênio, selenometionina e na proteção antioxidante

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista – UNESP, para obtenção do título de mestre em Alimentos em Nutrição com Ênfase em Ciências Nutricionais.

Aprovada em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro (Orientador) Instituição: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – FMRP/USP

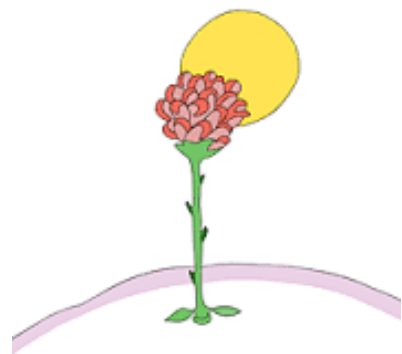
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. Fernando Barbosa Júnior Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – FCFRP/USP

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Profa. Dra. Thaís Borges César Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual de São Paulo – FCFAR/UNESP

Julgamento: _____ Assinatura: _____



*“Só se vê bem com o coração. O essencial
é invisível aos olhos”.*

O Pequeno Príncipe

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por me conceder a oportunidade da vida, por iluminar meu caminho e me dar forças para que eu possa conquistar meus objetivos e realizar meus sonhos.

Aos meus amados pais, Paulo e Carmem, agradeço de todo coração por todo apoio, confiança e amor dedicados a mim.

Ao meu namorado Juliano por estar sempre ao meu lado me incentivando com muito amor e paciência.

Ao meu orientador e amigo Professor Anderson Marliere Navarro por aceitar a sublime missão de educar e auxiliar na formação de futuros profissionais.

Aos meus amigos de ontem, hoje e sempre sou grata por ter vocês em minha vida! Todos os momentos únicos que vivi com cada um de vocês ficarão eternamente em meu coração.

Ao Professor Fernando Barbosa Jr. e a Vanessa C. de Oliveira Souza, Professor Alceu J. Afonso Jr. e a Paula Payão Ovídio pela paciência e por toda a ajuda dedicada à realização desse trabalho.

A todos os professores e funcionários da FCFAR-UNESP e da FMRP-USP, pelo auxílio e atenção dispensados.

Agradeço a FAPESP e a Capes pelo apoio financeiro.

E a todos que direta ou indiretamente se envolveram na realização deste trabalho. MUITO OBRIGADA!

RESUMO

WATANABE, L.M. **Influência da infecção pelo HIV e do uso da terapia antirretroviral nas concentrações de selênio, selenometionina e proteção antioxidante.** 2015. 59f. Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Farmácia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2015.

As deficiências nos compostos antioxidantes podem acelerar a progressão da doença por HIV influenciando no aumento do estresse oxidativo, que tem sido relacionado tanto com o uso da terapia antirretroviral (TARV) quanto com a própria infecção pelo HIV. O selênio tem um papel importante na infecção pelo HIV, sobretudo devido ao seu envolvimento na regulação do estresse oxidativo. Seus efeitos são dependentes da sua forma química e concentração, destacando-se a importância da especificação química. O presente estudo buscou avaliar se a infecção pelo HIV e o tempo de uso da TARV estão associados com maior dano oxidativo, baixas concentrações de selênio e seus metabólitos e uma menor proteção antioxidante da glutatona e da glutatona peroxidase. Trata-se de um estudo transversal, constituído por 120 indivíduos de ambos os sexos agrupados em: Grupo Controle (GC), HIV negativo, n=40; Grupo 1 (G1) HIV positivos em uso de TARV há mais de 5 anos, n=40; e Grupo 2 (G2), HIV positivos em uso de TARV há menos de 5 anos, n=40. Foram avaliados o selênio plasmático, selênio eritrocitário e a selenometionina. Os parâmetros antioxidantes foram a concentração da glutatona e a atividade da glutatona peroxidase. O estresse oxidativo foi medido por meio do malondialdeído. Avaliou-se ainda a ingestão alimentar e antropometria. A análise atual indicou que os indivíduos do presente estudo possuem a ingestão de selênio adequada e que a ausência de deficiência de selênio plasmático está associada ao uso da TARV. Foi observado que a infecção pelo HIV e o uso da TARV influenciam no estresse oxidativo, que por sua vez promove um aumento na expressão das defesas antioxidantes, medidas pela glutatona e glutatona peroxidase. Em relação a selenometionina, é possível que o aumento na sua concentração esteja relacionado à forma química do selênio ingerido, e que o uso da TARV contribua para a sua diminuição. Entretanto, mais estudos são necessários para compreender a influência da selenometionina nos indivíduos HIV positivos como parte importante da patogênese da infecção e do metabolismo dos indivíduos.

Palavras chave: HIV, terapia antirretroviral, selênio

ABSTRACT

WATANABE, L.M. **Influence of HIV infection and the use of antiretroviral therapy in concentrations of selenium and selenomethionine and antioxidant protection.** 2015. 59f. Department of Food and Nutrition, Faculty of Pharmaceutical Sciences, State University of São Paulo - UNESP, Araraquara, 2015.

The antioxidant components deficiencies may hasten the progression of HIV disease increasing the oxidative stress, which has been associated with both use of antiretroviral therapy (ART) and HIV infection. Selenium has an important role in HIV infection mainly due to its involvement in oxidative stress regulation. Its beneficial effects are dependent on their chemical form and concentration, highlighting the importance of selenium speciation. The present study aimed to evaluate whether HIV infection and ART time of use are associated with increased oxidative damage, low concentrations of selenium and its metabolites, and reduced antioxidant protection of glutathione and glutathione peroxidase. This is a cross-sectional study consisted of 120 individuals that were classified as: Control Group (GC), HIV negatives, n=40; Group 1 (G1), HIV positives under ART for more than 5 years, n=40; and Group 2 (G2), HIV positives under ART for less than 5 years, n=40. Plasma selenium, erythrocyte selenium and selenomethionine were evaluated. The antioxidant parameters were glutathione concentration and glutathione peroxidase activity. Oxidative stress was measured by malondialdehyde. In addition, we evaluated the dietary intake and anthropometry. The current analysis indicated that the subjects in this study had adequate selenium ingestion and the absence of plasma selenium deficiency was associated with the use of ART. We observed that HIV infection and use of ART influence oxidative stress, which in turn promotes an increase of the expression of antioxidant defenses, measured by glutathione and glutathione peroxidase. About selenomethionine, it is possible that its concentration increase is related to the chemical form of the ingested selenium and that the use of ART contributes to its decrease. However, further studies are necessary to understand the influence of selenomethionine in HIV positive individuals as an important part of the infection pathogenesis and individuals metabolism.

Keywords: HIV, antiretroviral therapy, selenium

LISTA DE FIGURA

CAPÍTULO II

Figura 1: Identificação da selenometionina por meio da especiação do selênio nos participantes.....	49
--	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

- Tabela 1:** Idade, sexo, antropometria e características clínicas dos participantes de acordo com o grupo de estudo.....45
- Tabela 2:** Concentração de selênio no plasma e eritrócitos, albumina, GPX, GSH e MDA dos participantes de acordo com o grupo de estudo.....46
- Tabela 3:** Concentração de selênio no plasma e eritrócitos, GPX, GSH e MDA dos participantes de acordo com o estado do HIV, independente do uso da TARV.....46
- Tabela 4:** Preditores significativos das variáveis antioxidantes (GPX e GSH) e oxidativa (MDA) de acordo com a análise de regressão múltipla para todos os indivíduos do estudo.....48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
$(\text{CH}_3)_2\text{Se}$	Dimetilseleneto
CH_3SeH	Metilselenol
$(\text{CH}_3)_3\text{Se}^+$	Trimetilselenônio
DIO	Iodotironina Deiodinase
DRI	Dietary Reference Intakes
EAR	Estimated Average Requirement
EO	Estresse Oxidativo
FAPESP	Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo
FCFAR	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara
FDA	Food and Drug Administration
HC/FMRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
HCL	Ácido Clorídrico
H_2Se	Seleneto de Hidrogênio
HFBA	Ácido heptafluoropentabutanoico
HIV	Vírus da Imunodeficiência
HNO_3	Ácido Nítrico
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
ICPMS	Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado
IF	Inibidor de Fusão
II	Inibidor da Integrase
IMC	Índice de Massa Corpórea
IPs	Inibidores de protease
ITRNs	Inibidores de transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos
ITRNNs	Inibidores de transcriptase reversa análogo de nucleosídeos e nucleotídeos
GPx	Glutathione Peroxidase
GR	Glutathione Redutase
GSH	Glutathione
MDA	Malondialdeído
NADP	Nicotinamide adenine dinucleotide

NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídio fosfato
NK	Natural Killer
RDA	Recommended Dietary Allowance
Se	Selênio
Se ²⁻	Seleneto
SeCis	Selenocisteína
SelH	Selenoproteína H
SelK	Selenoproteína K
SelM	Selenoproteína M
SelN	Selenoproteína N
SelP	Selenoproteína P
SelR	Selenoproteína R
SelS	Selenoproteína S
SelW	Selenoproteína W
SeMet	Selenometionina
SeO ₃ ²⁻	Selenito
SeO ₄ ²⁻	Selenato
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
T3	3,3', 5-triiodotironina
T4	3,3', 5,5'-tetraiodotironina
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TARV	Terapia Antirretroviral
TMP	Tetrametoxipropano
UETDI	Unidade Especial de Tratamento de Doenças Infecciosas
UL	Tolerable Upper Intake Level
UPC	Unidade de Pesquisas Clínicas
USDA	National Nutrient Database for Standard Reference
χ^2	Qui quadrado

SUMÁRIO

Capítulo 1

1. INTRODUÇÃO	15
2. HIPÓTESE	16
3. OBJETIVO	17
4. REFERENCIAL TEÓRICO	18
4.1. HIV/Aids: Considerações Gerais.....	18
4.2. Selênio.....	19
4.2.1. Selenoproteínas.....	23
4.2.1.1. Glutathiona peroxidase.....	24
4.2.1.2. Tioredoxina redutase.....	25
4.2.1.3. Iodotironina deiodinase.....	25
4.2.1.4. Selenoproteína P.....	26
4.2.2. O papel do selênio na resposta imune.....	26
4.2.3. Selênio e HIV.....	27
REFERÊNCIAS	29

Capítulo 2 - Influência da infecção pelo HIV e do uso da TARV nas concentrações de selênio, selenometionina e proteção antioxidante

RESUMO	37
1. INTRODUÇÃO	38
2. CASUÍSTICA E MÉTODOS	39
2.1. População de estudo.....	39
2.2. Dados coletados.....	39
2.2.1. Avaliação antropométrica.....	40
2.2.2. Avaliação do consumo alimentar de selênio.....	40
2.2.3. Quantificação da carga viral e contagem de linfócitos TCD4+.....	40
2.3. Avaliação bioquímica.....	41
2.3.1. Avaliação do dano oxidativo.....	41

2.3.1.1. Malondialdeído.....	41
2.3.2. Glutathiona.....	41
2.3.3. Atividade da Glutathiona Peroxidase.....	41
2.3.4. Selênio total.....	42
2.3.5. Especificação do Selênio – Selenometionina.....	42
3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
3.1. Variáveis categóricas.....	43
3.2. Comparação entre grupos.....	43
3.3. Análise de regressão.....	43
4. RESULTADOS.....	44
4.1. Características da população.....	44
4.2. Selênio plasmático.....	45
4.3. Selênio eritrocitário.....	46
4.4. Glutathiona Peroxidase.....	47
4.5. Glutathiona.....	47
4.6. Malondialdeído.....	47
4.7. Uso da TARV.....	48
4.8. Especificação do selênio - Selenometionina.....	48
5. DISCUSSÃO.....	49
5.1. Selênio plasmático.....	49
5.2. Glutathiona peroxidase.....	51
5.3. Glutathiona.....	51
5.4. Malondialdeído.....	52
5.5. Selenometionina.....	53
6. CONCLUSÃO.....	54
AGRADECIMENTOS.....	55
FINANCIAMENTO.....	55
REFERÊNCIAS.....	55

Capítulo 1

1. INTRODUÇÃO

A Aids, ou Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, teve início nos anos 80, a partir da descoberta e definição dos primeiros casos nos Estados Unidos da América (EUA), Haiti e África Central (VALENTE, 2005). É uma doença provocada por um retrovírus, o vírus da imunodeficiência humana (HIV), que ataca e prejudica o sistema de defesa natural do corpo contra doenças e infecções (BARRÉ- SINOUSSE et al., 1983; QUAGLIARELLO, 1982). Inicialmente restrita a áreas específicas, logo se espalhou por várias regiões do mundo, tornando-se uma pandemia que já infectou pelo menos 60 milhões pessoas e causou mais de 25 milhões de mortes (DIEFFENBACH; FAUCI, 2011; SHARP; HAHN, 2011).

A patogênese da infecção por HIV inclui a depleção gradual dos linfócitos TCD4+ que se correlaciona com a imunodeficiência (CLOYD et. al., 2001). Esse efeito é acompanhado pela ativação de numerosos elementos do sistema imune, conduzindo a uma imunossupressão funcional e um estado de inflamação e coagulação que se relacionam com o aumento do risco de complicações não oportunistas observadas em pacientes com infecção por HIV (LANE, 2010).

O estresse oxidativo tem sido amplamente documentado em pacientes infectados pelo HIV, uma vez que as infecções virais promovem a ativação prolongada do sistema imune contribuindo para o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ZHAO et al., 2000; STEPHENSEN et al., 2005; STEINBRENNER et al., 2015). Numerosos estudos apontam o uso das terapias antirretrovirais (TARV) como potenciais contribuintes para o aumento das espécies reativas de oxigênio em pacientes HIV positivos (PORTER; SUTLIFF, 2012). Além disso, o uso da TARV tem sido associado a efeitos adversos que estão relacionados a alterações metabólicas importantes tais como neuropatia periférica, perda da densidade mineral óssea, doença coronariana, osteonecrose, síndrome da lipodistrofia, acidose láctica e envelhecimento precoce (DEEKS, 2009; CAPEAU, 2011; PORTER; SUTLIFF, 2012; LIBMAN, 2014).

Entre os vários fatores que podem afetar a progressão de uma doença estão a alimentação e o estado nutricional, que são conhecidos por ter efeitos substanciais sobre a imunidade e resistência a infecções. Deficiências de macro e micronutrientes, únicas ou múltiplas, podem ter um impacto importante na imunidade que podem modificar o curso

de uma doença crônico/infecciosa em longo prazo, tal como a infecção pelo HIV. Dentro da categoria de micronutrientes, os oligoelementos essenciais podem influenciar a imunidade por causa de sua presença em metaloenzimas (BODGEN; OLESKE, 2007).

O selênio é um micronutriente essencial que tem sido amplamente associado a um papel importante na infecção pelo HIV, sobretudo devido o seu envolvimento na regulação do estresse oxidativo, intimamente relacionado ao estado redox da célula e com a regulação redox dos genes que são importantes para várias funções imunes (ZHAO et al., 2000; HOFFMANN; BERRY, 2008). Além disso, através da incorporação de selenoproteínas, sobretudo a glutathiona peroxidase e tioredoxina redutase, o selênio tem sido mostrado como um potente regulador tanto da atividade da NF-κB quanto da transcrição do HIV (ZHAO et al., 2000; HOFFMANN; BERRY, 2008).

Os efeitos benéficos do selênio para a saúde humana são fortemente dependentes da sua forma química e concentração (PEDRERO; MADRID, 2009). Sendo assim, destaca-se a importância da especificação química para a identificação e quantificação de um conjunto de metabólitos que contém selênio (OGRA; ANAN, 2012).

Os estudos recentes que avaliam o selênio em pacientes HIV positivos em uso prologado da TARV são limitados. Além disso, não existem dados disponíveis relacionando os metabólitos do selênio com a infecção pelo HIV. Sendo assim, o presente estudo buscou verificar se e de que forma a infecção pelo HIV e o uso da TARV influenciam no selenometabolismo, visando auxiliar no estabelecimento de novas estratégias terapêuticas, a fim de melhorar a qualidade de vida dos indivíduos HIV positivos.

2. HIPÓTESE

A infecção pelo HIV e o uso da TARV aumentam o estresse oxidativo e diminuem a proteção antioxidante, assim como as concentrações de selênio e selenometionina.

3. OBJETIVO

O presente estudo buscou avaliar se a infecção pelo HIV e o tempo de uso da TARV estão associados com o dano oxidativo, medido pelo malondialdeído, concentrações de selênio e selenometionina e proteção antioxidante da glutathiona e da glutathiona peroxidase.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1.HIV/Aids: Considerações Gerais

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, ou Aids, foi primeiramente descrita em 1981 nos Estados Unidos (BARRÉ-SINOUSSEI et. al., 1983). É uma doença provocada por um retrovírus, o vírus da imunodeficiência humana, que ataca e prejudica o sistema de defesa natural do corpo contra doenças e infecções (BARRÉ- SINOUSSEI et. al., 1983; QUAGLIARELLO, 1982).

O Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/Aids – UNAIDS – relata que no final de 2013, havia aproximadamente 35 milhões de pessoas vivendo com HIV/Aids em todo mundo (UNAIDS/WHO, 2014). No Brasil, até o final de 2012, a estimativa era de que 0,4% da população geral (aproximadamente 718 mil pessoas) viviam com HIV/Aids. Segundo o boletim epidemiológico a média anual de novos casos, nos últimos 10 anos no Brasil, foi de 37.446 pessoas (UNAIDS/WHO, 2014; BRASIL, 2013).

A principal característica da infecção pelo HIV é a depleção progressiva das células TCD4+ devido à redução de sua produção e aumento da destruição (MAARTENS et. al., 2014). A supressão dos linfócitos T4 ou *T helper* caracteriza um estágio final das reações imunossupressoras, que torna o organismo altamente suscetível ao desenvolvimento de tumores e doenças oportunistas, condições definidoras da Aids (YOUNG et. al., 2012).

Com o início da utilização da TARV, no ano de 1996, foi possível melhoria na qualidade de vida dos indivíduos infectados pelo HIV, a inibição sustentada da carga viral e o aumento na recuperação das células imunitárias, sendo imprescindível, não só em benefícios clínicos para os indivíduos, mas também na redução da transmissão do HIV em todo o mundo (AKINBORO et. al., 2013; MAYER; VENKATESH, 2010). Além disso, a TARV permitiu que o HIV deixasse de ser uma doença progressiva com um desfecho fatal para se tornar uma doença controlável crônica (MAARTENS, et. al., 2014).

Até o final de 2010, mais de 5 milhões de pessoas estavam recebendo a TARV em todo mundo (MAYER; VENKATESH, 2010). No Brasil, de acordo com o Boletim Epidemiológico – HIV/Aids de 2012, 44% dos indivíduos infectados pelo HIV (aproximadamente 331 mil pessoas) estão em uso da TARV (BRASIL, 2013).

A TARV consiste em uma combinação contendo drogas que visam o ciclo de vida do HIV com o objetivo de parar a sua replicação e preservar ou restaurar a função imune (GÜNTARD et. al., 2014), sendo elas: inibidores de transcriptase reversa análogos ou não de nucleosídeos, inibidores de protease, inibidor de fusão, inibidor de entrada (antagonista CCR5) e inibidor da integrase (BRASIL, 2008; MONTESSORI et. al., 2004).

Esquemas de TARV padrão combinam dois inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos com um inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo, inibidores de protease, ou um inibidor da integrase. (MAARTENS et. al., 2014). Mais de 25 medicamentos licenciados que bloqueiam a replicação do HIV em várias etapas do ciclo de vida do vírus estão disponíveis (MAARTENS, et. al., 2014).

Apesar dos benefícios e a eficácia, as terapias padrão não restauram completamente a saúde ou um estado imunológico normal em indivíduos infectados pelo HIV e seu uso em longo prazo tem sido associado a efeitos adversos que incluem: síndrome da lipodistrofia (redistribuição anormal de gordura corporal, dislipidemia e intolerância a glicose), doença coronariana, perda prematura da densidade mineral óssea, osteonecrose, acidose láctica e neuropatia periférica (DEEKS, 2009; LIBMAN, 2014).

Outro aspecto importante evidenciado em indivíduos HIV positivos é a deficiência de micronutrientes, que reduz a atividade antioxidante, mais especificamente de vitaminas E e C, carotenoides, zinco e selênio. Além disso, é mais pronunciada em indivíduos em um estágio avançado da doença, como consequência da redução da ingestão de nutrientes devido à Aids e infecções oportunistas, e também por perdas excessivas devido a diarreia e má absorção (PORTER; SUTLIFF, 2012; IRLAM et al. 2010). Curiosamente, estudos recentes têm mostrado que a TARV atua para manter e/ou restaurar os níveis de micronutrientes como o zinco, mas especialmente o selênio (ROUSSEAU, et al., 2000; JONES et al., 2006; AKINBORO, et al., 2013; OKWARA, et al., 2013; DE MENEZES BARBOSA, et al., 2014).

4.2. Selênio

Entre os vários fatores que podem afetar a progressão de uma doença estão a alimentação e o estado nutricional, que são conhecidos por ter efeitos substanciais sobre a imunidade e resistência a infecções. Deficiências de macro e micronutrientes, únicas ou

múltiplas, podem ter um impacto importante na imunidade que podem modificar o curso de uma doença crônica/infecciosa em longo prazo, tal como a infecção pelo HIV. Dentro da categoria de micronutrientes, os oligoelementos essenciais podem influenciar a imunidade por causa de sua presença em metaloenzimas (BODGEN; OLESKE, 2007).

O selênio (Se) é um elemento traço, encontrado em pequenas quantidades no organismo. Foi primeiramente isolado em 1817, pelo químico sueco Jacob Berzelius Jöns e a importância do Se na saúde foi destacada em 1957, a partir de estudos que relacionaram a deficiência de selênio a uma série de distúrbios, tanto em modelos animais quanto em humanos (BELLINGER et.al., 2010; MEHDI et. al., 2013). Por ser um semi metal tem características químicas e biológicas ambivalentes entre um metal e um não metal (OGRA; ANAN, 2012; MEHDI et. al., 2013).

Na última década houve um interesse crescente no selênio e seus compostos devido as suas propriedades ambientais, biológicas e toxicológicas, especialmente em relação às várias ações na prevenção e tratamento de doenças (SANMARTÍN et. al., 2012). O selênio desempenha um papel importante em diversos processos fisiológicos como a quimioprevenção, neurobiologia, o envelhecimento, a imunidade (respostas imunes, a atividade anti-inflamatória e atividade antiviral), o metabolismo muscular, reprodução e reações redox (ZHANG et. al., 2013).

O selênio é armazenado na forma de L-selenometionina em órgãos e tecidos em densidade variável: 30% no fígado, 30% no músculo, 15% nos rins, 10% no plasma e 15% em outros órgãos. As reservas de selênio são utilizadas quando a sua ingestão é insuficiente para síntese de selenoproteínas (MEHDI et al., 2013).

As recomendações de ingestão de selênio foram baseadas em dois estudos de intervenção: 1) na China, demonstrou-se que o nível máximo da atividade da glutathione peroxidase plasmática é atingido com ingestão de 41µg/dia. Com um ajuste para peso corporal de homens americanos, esse valor foi determinado em 52µg/dia; 2) na Nova Zelândia, sugeriu-se uma EAR (Estimated Average Requirement/necessidade média estimada) próxima a 38µg/dia. A média dos dois valores resultou no estabelecimento de uma EAR de 45µg/dia para homens e mulheres com idades entre 19 e > 70 anos. O valor da RDA (Recommended Dietary Allowance/ingestão dietética recomendada) para o mesmo grupo de indivíduos foi calculado como 120% da EAR e arredondado para 55µg/dia (COMINETTI; COZZOLINO, 2009). As principais fontes de selênio alimentar

são: castanhas-do-pará, frutos do mar, aves e carnes vermelhas e arroz integral (USDA, 2012).

A intoxicação por selênio pode apresentar-se através de manchas nas unhas, náuseas, vômitos e diarreia. Já deficiência de selênio está relacionada com várias enfermidades, entre elas doenças coronarianas, asma atópica, câncer, psoríase, aborto espontâneo, doença de Keshan, doença de Kashin-Beck, infertilidade masculina e cretinismo mixedematoso (ELLWANGER et. al., 2011).

O diagnóstico da deficiência de selênio é confirmado pela medição das concentrações de selênio no soro ou plasma. Valores menores que 50-70 µg/L no plasma sugerem que a síntese de proteínas associadas ao selênio não é suficiente e que o suprimento de selênio está limitado (IOM, 2000; COZZOLINO, 2012).

O selênio é um oligoelemento nutricional essencial (ZHANG et al., 2013) e os seus efeitos benéficos para a saúde humana são fortemente dependentes da sua forma química e concentração (PEDRERO; MADRID, 2009). Sendo assim, destaca-se a importância da selenometabolômica, que consiste em um novo termo criado que significa identificar e quantificar o conjunto de metabólitos do selênio. Em outras palavras, o metaboloma se refere a um conjunto de metabólitos de pequenas moléculas tais como metabólitos intermediários, hormônios e outras moléculas sinalizadoras e metabólitos secundários em um sistema biológico e a metabolômica é o estudo do perfil de tais metabólitos de pequenas moléculas. Portanto, a selenometabolômica se refere a um estudo sistemático dos selenometabólitos processados em uma célula biológica, tecido, órgão ou organismo (OGRA; ANAN, 2012).

O termo "espeiação" de um elemento (em particular, um metal e um metalóide) é definido pela distribuição do elemento entre espécies químicas definidas em um sistema, enquanto que a análise de espeiação é definida pelas atividades analíticas envolvidas na identificação e/ou quantificação de uma ou mais espécies químicas individuais numa amostra. Selenometabolomas podem ser separados, identificados e quantificados por meio de métodos analíticos apropriados. Como selenometabolomas consistem em diversas formas químicas num sistema biológico, cada metabólito contendo selênio deve ser separado por uma técnica de separação adequada e específica (OGRA; ANAN, 2012).

A técnica hifenada é a técnica analítica mais utilizada para a espeiação do selênio. A técnica hifenada para a espeiação de um metal/metalóide consiste em duas técnicas analíticas: a técnica de separação e a técnica de detecção. A cromatografia líquida de alta

performance (HPLC) é uma das mais populares técnicas de separação usada com outras técnicas tais como cromatografia gasosa, eletroforese em gel e eletroforese capilar. A técnica utilizando HPLC apresenta diversas vantagens sobre outras técnicas de separação: diversos modos estão disponíveis, tais como filtração em gel, troca iônica, afinidade, fase reversa e as condições de separação são semelhantes às condições fisiológicas, particularmente em uma coluna de filtração de exclusão de tamanho/gel. A espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICPMS) tem detecção multielementar habilitada com altíssima sensibilidade e robustez para as matrizes, bem como discriminação isotópica. A eluição do HPLC pode ser diretamente introduzida no ICPMS. Portanto, o acoplamento do HPLC com ICPMS é a técnica hifenada mais amplamente utilizada para a especificação (OGRA; ANAN, 2012).

Em um sistema biológico, o selênio existe em diversas formas químicas dependendo da via metabólica, tais como ingestão, absorção, utilização, armazenamento e excreção (OGRA; ANAN, 2012). Algumas formas são preferencialmente incorporadas as selenoproteínas (proteínas que requerem selênio para atividade catalítica), outras não são especificamente incorporadas a proteínas, enquanto que outras são excretadas (PEDRERO; MADRID, 2009). O selênio está presente na natureza e nos organismos como formas orgânicas e/ou inorgânicas. As principais formas orgânicas são a selenometionina (SeMet) e selenocisteína (SeCis) e as inorgânicas são selenito (SeO_3^{2-}), seleneto (Se^{2-}), selenato (SeO_4^{2-}) (MEHDI et al., 2013).

A selenometionina é a principal fonte de compostos de selênio presente em produtos vegetais e é o principal precursor para a síntese de selenocisteína, a forma mais abundante em produtos de origem animal. Há também a selênio-metilselenocisteína. O selenito e o selenato são encontrados basicamente em suplementos, visto que em alimentos a quantidade é extremamente baixa. As diferentes formas do mineral são responsáveis por sua biodisponibilidade e distribuição tecidual. A eficiência de utilização das formas orgânicas e inorgânicas para a síntese de selenoproteínas é semelhante. A selenometionina melhora o status de selênio de maneira mais eficaz do que as outras formas. As taxas médias de absorção da selenometionina e do selenito são de aproximadamente 84% e 98%, com doses de 200 µg, respectivamente (COMINETTI; COZZOLINO, 2009).

O selenito é metabolizado a seleneto de hidrogênio (H_2Se) via selenodiglutationa (PEDRERO; MADRID, 2009). O metabolismo da selenometionina pode seguir diferentes rotas. Ela pode, no lugar da metionina, se incorporar a proteínas, em caso de esta ser um

fator limitante na alimentação. Pode também ser convertida em selenocisteína pela via da trans-sulfuração e, posteriormente, converter-se em seleneto de hidrogênio, seguindo a mesma via descrita para o selenito. Por fim, através de reação enzimática com a metioninase, pode gerar metilselenol (COMINETTI; COZZOLINO, 2009). A selenocisteína, proveniente tanto da dieta quanto da via da selenometionina, também será reduzida a seleneto de hidrogênio. Diferentemente, a selênio-metilselenocisteína e os compostos sintéticos de selênio, entre eles a selenobetaína, o ácido metilselenínico e o metilselenocianato, são convertidos em metilselenol através de reação enzimática com a β -liase. O seleneto de hidrogênio proveniente da conversão das diferentes formas de selênio será, por sua vez, transformado em selenofosfato, numa reação mediada pela selenofosfato sintetase. Por fim, será incorporado às selenoproteínas na forma de selenocisteína (COMINETTI; COZZOLINO, 2009).

O seleneto de hidrogênio pode, ainda, ser metabolizado via produtos intermediários metilados para metilselenol (CH_3SeH), dimetilseleneto ($(\text{CH}_3)_2\text{Se}$) e trimetilselenônio ($(\text{CH}_3)_3\text{Se}^+$) (PEDRERO; MADRID, 2009). A principal forma de excreção é a urinária, que ocorre quando a ingestão alimentar é adequada. Em níveis de ingestão que variam de adequados a pouco tóxicos, o principal composto monometilado eliminado via renal, é um selenoaçúcar, a 1β -metilseleno-N-acetil-d-galactosamina. Quando a ingestão é excessiva, a excreção através da urina pode aumentar significativamente, e as principais formas, nesse caso, são as trimetiladas. Quando a ingestão do mineral é muito elevada e a eliminação do trimetilselenônio torna-se saturada, ocorre excreção através dos pulmões no ar expirado, principalmente na forma de dimetilselenito volátil. Nas fezes, ocorre a excreção principalmente de selênio alimentar não absorvido, junto com o selênio presente nas secreções biliares, pancreáticas e intestinais (COMINETTI; COZZOLINO, 2009).

4.2.1. Selenoproteínas

O selênio é incorporado nas proteínas não somente através de associações iônicas, como a maioria dos metais são, mas está ligado de forma covalente no aminoácido selenocisteína, o aminoácido 21. A selenocisteína possui uma estrutura que é quase idêntica a cisteína, exceto pelo selênio no lugar do enxofre. A presença de selenocisteína em uma proteína, glutathione peroxidase, foi relatada pela primeira vez em 1978 (BELLINGER et.al., 2010).

Três classes de selenoproteínas, glutathiona peroxidase, tioredoxina redutase (TrxR) e iodotironina deiodinase (DIO) estão entre as primeiras selenoproteínas eucarióticas descobertas e são as mais extensivamente estudadas (BELLINGER et.al., 2010; SUZUKI; OGRA, 2010). A selenoproteína P (Sepp), que foi descrita pela primeira vez em 1982 (MOTSENBOCKER; TAPPEL, 1982) e descoberta em humanos em 1993 (EBERLE; HAAS, 1993), constitui mais de 50% das reservas de selênio no plasma (MEHDI et al., 2013).

Existem ainda, outras diferentes selenoproteínas em seres humanos, tais como as selenoproteínas W (SelW), N (SelN), S (SelS), K (SelK), H (SelH), R (SelR), M (SelM), que estão localizadas em diferentes partes do organismo humano e exercem funções essenciais variadas (MEHDI et al., 2013).

4.2.1.1. Glutathiona Peroxidase (GPX)

A GPX foi a primeira selenoproteína a ser descrita e, portanto, melhor caracterizada. (PEDRERO; MADRID, 2009). Existem oito formas de GPX que são caracterizadas por funções semelhantes. Elas têm diferentes modos e locais de ação e diferentes formas químicas. Protegem as células, em sinergia com a vitamina E, do acúmulo de H₂O₂ ou hidro peróxidos orgânicos e auxiliam na manutenção da integridade da membrana. Além disso, reduzem a probabilidade de transmissão do dano opinativo adicional das biomoléculas como lipídios, lipoproteínas e DNA (MEHDI et. al., 2013).

A atividade enzimática da GPX é diretamente proporcional à ingestão de selênio, especialmente para formas de 1 a 4, que são dependentes de selênio para realizar a neutralização. Isso indica, portanto, uma forte ligação entre a deficiência de selênio e estresse oxidativo (MEHDI et. al., 2013). Além disso, as GPX 1 e 4 estão entre as selenoproteínas mais encontradas em várias células e tecidos imunes (HUANG et al., 2012).

4.2.1.2. Tioredoxina Redutase (TrxR)

TrxR, tioredoxina (Trx) e NADPH constituem o sistema tioredoxina, um grande sistema redox celular presente em todos os organismos vivos. O sistema tioredoxina desempenha um papel central na regulação da expressão de genes através do controle de fatores redox de transcrição, incluindo o NF-kB, Ref-1, AP-1, p53, receptor de

glicocorticoides, e de regulação da apoptose quinase (ASK1). Assim, indiretamente, regula as atividades celulares tais como a proliferação celular, a morte celular, e ativação da resposta imune (PAPP et al., 2007). Além disso, o TrxR é uma das proteínas envolvidas em mecanismos essenciais para a síntese de reparação do DNA (PEDRERO; MADRI, 2009). As três isoenzimas TrxR humanas contêm um resíduo de selenocisteína essencial no seu átomo de carbono terminal: citosólica TrxR-1, mitocondrial TrxR-2, específico do testículo TrxR-3 glutationa/tioredoxina redutase (ALMONDES et al., 2010.).

A TrxR é uma proteína redox amplamente distribuída que regula vários processos intracelulares redox-dependentes e estimula a proliferação de ambas às células, normais e tumorais (PEDRERO; MADRID, 2009). Estudos recentes têm demonstrado que a TrxR-1, uma selenoproteína altamente dependente de selênio, é importante para manutenção do tônus redox em células do sistema imunológico e em indivíduos HIV-1 soropositivos, pode inibir a replicação viral (HUANG et al., 2012).

4.2.1.3. Iodotironina Deiodinase (DIO)

As isoenzimas DIO tipo 1 e tipo 2, DIO1 e DIO2, catalisam a conversão da tiroxina ou 3,3', 5,5'-tetraiodotironina (T4) para liotironina ou 3,3', 5-triiodotironina (T3) por 5'-deiodinação. Esta reação ocorre para fins de sinalização em células-alvo, gerando o hormônio T3 ativo da tireoide e reabastece o fornecimento de T3 circulante. O terceiro membro da família (DIO3) inativa hormônios da tireoide através da remoção de iodo do anel interno de iodotironinas (SCHOMBURG, 2012).

Todas as três deiodinases são expressas em um número de tecidos fetais e adultos, com expressão mínima detectada em células imunológicas. No entanto, os níveis do hormônio da tireoide ativos podem influenciar o selênio sistêmico disponível para síntese de selenoproteínas numa variedade de tecidos, incluindo aqueles que estão envolvidos nas respostas imunes. Neste sentido, as enzimas DIO podem ter papéis importantes indiretos na inflamação e imunidade (HUANG, 2012).

4.2.1.4. Selenoproteína P (Sepp)

A Sepp é a principal selenoproteína plasmática, produzida principalmente no fígado, pulmões e coração. Sua função é ainda controversa. Alguns autores indicam que

ela poderia atuar como transportador de selenocisteína para síntese de selenoproteína. Seu elevado conteúdo de selenocisteína e histidina tem sido relacionado com a detoxificação de metais por formação de complexo. Evidências de que a Sepp transporta o selênio para o cérebro tem sido apresentada (PEDRERO; MADRID, 2009). Além disso, também tem sido demonstrado que a Sepp realiza funções antioxidantes fundamentais que são particularmente importantes para o sistema imune (HUANG et al., 2012). A deficiência de selênio causa uma diminuição da SePP em ratos e humanos (PEDRERO; MADRID, 2009).

4.2.2. O papel do selênio na resposta imune

O selênio influencia vários aspectos da saúde humana, incluindo uma resposta imune adequada. Por meio da incorporação nas selenoproteínas, o selênio está envolvido na regulação de processos celulares importantes em praticamente todos os tecidos e tipos de células, incluindo aqueles que estão envolvidos em respostas imunes inatas e adaptativas, como baço, fígado e nódulos linfáticos (HOFFMANN; BERRY, 2008; MEHDI et. al., 2013). O selênio dietético e selenoproteínas também estão envolvidos na imunorregulação, que é crucial para prevenir respostas excessivas que podem conduzir a autoimunidade ou inflamação crônica (HUANG et al. 2012).

Vários membros da família de selenoproteínas regulam ou são reguladas pelo tônus redox celular, que é um modulador importante da sinalização celular e a função imunitária. As células do sistema imune expressam a maioria dos 25 genes que codificam selenoproteínas em humanos e a GPX1 e GPx4 apresentam os níveis mais elevados de expressão em linfócitos T e macrófagos (HUANG et al. 2012; STEINBRENNER et al 2015.).

A deficiência de selênio reduz a efetividade das células imunes, enquanto a suplementação pode exercer efeito contrário, provavelmente por meio de três maneiras distintas: 1) regulação da expressão de células T com alta afinidade por receptores de interleucina 2 (IL2) e promoção de resposta aumentada destas células; 2) prevenção de danos oxidativos em células do sistema imune; 3) alteração da agregação plaquetária via redução da produção de tromboxanos em relação a leucotrienos (COMINETTI; COZZOLINO, 2009).

Alguns estudos demonstraram que o selênio estimula a formação de anticorpos e a atividade de células T *helper* juntamente com células T citotóxicas e células Natural

Killer. Isso também implica no estímulo a migração de células fagocíticas e na fagocitose (BURK, 1994; FINCH; TURNER, 1996). Em termos de status de selênio, alguns metabólitos de selênio e selenoproteínas, como GPX1 e TrxR1, mostraram-se envolvidos nas respostas imunológicas e inflamatórias, porém, os mecanismos responsáveis pelos efeitos benéficos ainda não totalmente compreendidos (MEHDI et.al., 2013).

Outras características já observadas em seres humanos foram que a suplementação com selênio, reduz o eritema provocado por exposição à radiação ultravioleta, reduz a ativação e replicação do vírus HIV em células T, reduz a ativação do fator nuclear kappa B (NF- κ B), reduz a atividade lipoxigenase de células B, reduz a morte celular, os danos ao DNA e a peroxidação lipídica de células da pele expostas a radiação ultravioleta e favorece a apoptose em células tumorais (COMINETTI; COZZOLINO, 2009).

4.2.3. Selênio e HIV

Na patogênese da Aids, um estado deficitário de selênio pode contribuir para a progressão da infecção pelo HIV (ELLWANGER et. al., 2011). Nos indivíduos soropositivos para o HIV, os níveis de selênio no plasma estão associados com os marcadores de parâmetros imunes, sendo positivamente relacionados com a contagem de células TCD4 +, inversamente relacionados com a β 2-microglobulina (marcador de depleção de células TCD4 + e da progressão da doença HIV) e com a atividade da timidina-quinase, que parece desempenhar um papel na ativação de análogos de nucleósídeos (CAMP; BAUM, 2012). Sob condições de deficiência de selênio, os níveis de selenoproteínas são deprimidos em graus variados dependendo da eficiência da biossíntese, taxa de *turnover* relativos, estabilidade do mRNA, estabilidade da enzima, e muitos outros fatores. Como resultado, as atividades catalíticas e regulatórias reduzidas podem perturbar balanços metabólicos delicados e exacerbar numerosas doenças, tal como a infecção pelo HIV (Gladyshev et al., 1999).

Nos indivíduos soropositivos para o HIV, baixas concentrações de selênio estão associadas à diminuição das células TCD4+, progressão da doença, maior mortalidade, aumento do estresse oxidativo e diminuição progressiva da capacidade antioxidante (STEPHENSEN et. al., 2007; HOFFMAN; BERRY, 2008; SANMARTIN et. al., 2011). Além disso, o risco de desenvolverem uma infecção micobacteriana em pacientes com HIV aumenta quando a concentração de selênio no plasma é $<135 \mu\text{g/L}$ (HOFFMAN; BERRY, 2008). Por outro lado, os suplementos alimentares contendo selênio com até

200mg/d, tem potencial como uma terapia adjuvante segura, barata e amplamente disponível em infecções virais, tais como a infecção pelo HIV, bem como em infecções adjacentes ao HIV, melhorando a qualidade de vida dos pacientes (STEINBRENNER et al. 2015). Estudos recentes têm demonstrado que a suplementação diária de selênio em indivíduos HIV-1 positivos pode ser uma potencial terapia adjuvante, amplamente disponível, segura e de baixo custo para os pacientes com HIV/Aids uma vez que, suprime a progressão da carga viral, proporciona melhoria de células T CD4+, aumenta a vitalidade e reduz a necessidade de hospitalização (HOFFMANN; BERRY, 2008; KALANTARI et al., 2008).

A TARV mudou o panorama do Vírus da Imunodeficiência Humana/pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (HIV/Aids), possibilitando a redução da morbidade, a melhoria na qualidade de vida dos pacientes, a inibição sustentada da carga viral e aumento na recuperação das células imunitárias (AKINBORO et. al., 2014). Além disso, estudos recentes têm mostrado que a TARV atua para manter e/ou restaurar os níveis de alguns micronutrientes, especialmente o selênio.

Em um estudo transversal realizado por Akinboro et al., 2013, verificou-se que pacientes com HIV que utilizam TARV apresentaram aumento na contagem de células CD4 + e normalização nas concentrações de selênio no soro. Rousseau et al., 2000, avaliaram o estado nutricional e micronutrientes em 44 pacientes durante 3 anos e demonstrou que TARV reduz deficiências de selênio e zinco e pode ajudar a evitar a perda de peso, independentemente da contagem de células TCD4 +. Além disso, Jones et al., 2006 relataram que, em pacientes HIV-positivos em uso da TARV, que participam do estudo *Nutrition for Healthy Living* (NFHL), baixos níveis de retinol, α -tocoferol e selênio, com exceção do zinco, não eram comuns.

O estudo de Okwara et al., 2013, avaliou a concentração de selênio sérico em voluntários infectados pelo HIV antes do uso da TARV e após 6 meses de tratamento com TARV. Os resultados demonstraram que o tratamento com a TARV melhorou o estado de selênio em indivíduos soropositivos para o HIV. Outro estudo realizado no Brasil mostrou que a maior exposição à TARV melhora o perfil bioquímico do selênio em pacientes soropositivos para o HIV (DE MENEZES BARBOSA et. al., 2014).

A combinação de uma boa adesão à TARV e uma nutrição adequada podem contribuir para ausência de deficiência mineral influenciando efetivamente para a melhoria da saúde dos pacientes infectados pelo HIV (DE MENEZES BARBOSA et.al., 2014). Bogden e colaboradores (2007) relataram que os múltiplos esquemas de TARV

podem ter um efeito substancial sobre a nutrição mineral, mas poucos estudos têm relatado o efeito específico de uma forma adequada. Além disso, não existem dados disponíveis relacionando os metabólitos do selênio com a infecção pelo HIV ou uso da TARV. Sendo assim, mais estudos são necessários para melhor caracterizar o metabolismo do selênio no contexto da patogênese da Aids, podendo auxiliar no estabelecimento de novas estratégias terapêuticas.

REFERÊNCIAS

BARRÉ-SINOUSI, F. et al. (1983). Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for AIDS. *Science*, v.220, p.868-871.

BELLINGER F.P.; RAMAN A.V.; REEVES M.A. & BERRY M.J. (2010). Regulation and function of selenoproteins in human disease. *Biochem J*, v. 422, p.11–22.

BOGDEN J. D. & OLESKE, J.M. (2007). The essential trace minerals, immunity, and progression of HIV-1 infection. *Nutrition Research*. v. 27, p. 69– 77.

BRASIL/Ministério Da Saúde. Boletim Epidemiológico AIDS-DST, ano II, nº1, 2013. Available from: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexps/publicacao/2013/55559/_p_boletim_2013_internet_pdf_p51315.pdf.

BRASIL/Ministério Da Saúde. Programa Nacional de DST/AIDS, 2008. Available from: <<http://www.aids.gov.br/main.asp?View={CEBD192A-348E-4E7E-8735B30000865D1C}&Mode=1>>.

BURK, R.F. (1994). *Selenium in Biology and Human Health*. Springer-Verlag New York Inc, p. 221.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. HIV Classification: CDC and WHO Staging Systems; 2012. Available from: http://www.aids.gov/aidsinfo/2012/hiv_classification.

CHEN, K. et al. Protective role of sodium selenite on histopathological lesions, decreased T-cell subsets and increased apoptosis of thymus in broilers intoxicated with aflatoxin B1. *Food and Chemical Toxicology*. v. 59, p. 446–454, 2013.

CLOYD, M.W.; CHEN, J.Y.; ADEQBOYEGA, P. & WANG, L. (2001). How Does HIV Cause Depletion of CD4 Lymphocytes? A Mechanism Involving Virus Signaling Through its Cellular Receptors. *Current Molecular Medicine*. v. 1, p. 545-550.

COMINETTI, C. & COZZOLINO, S.M.F. Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes - Selênio / ILSI Brasil, 2009. Available from: <http://www.ilsi.org/Brasil/Documents/08%20-%20Sel%C3%AAnio.pdf>.

COZZOLINO, S.M.F. (2010). Biodisponibilidade de nutrientes, (4 a edição). Barueri, SP: Manole.

DIEFFENBACH, C.H. & FAUCI, A.S. (2011). Thirty Years of HIV and AIDS: Future Challenges and Opportunities. *Ann Intern Med*. v. 154, p. 766-771.

DE MENEZES BARBOSA E.G.M.; BARBOSA-JÚNIOR F.; MACHADO A.A. & NAVARRO A.M. (2015). A longer time of exposure to antiretroviral therapy improves selenium levels. *Clinical Nutrition*. v.34, p. 248-251.

DEEKS, S.G. (2009). Immune dysfunction, inflammation, and accelerated aging in patients on antiretroviral therapy. *Top HIV Med*, v. 17, p. 118-23.

DUGGAL S.; CHUGH T.D.; DUGGAL A.K. (2012) HIV and Malnutrition: Effects on Immune System. *Clinical and Developmental Immunology*, v.8, doi:10.1155/2012/784740.

EBERLE B. & HAAS H.J. (1993). Purification of selenoprotein-Ph from human serum. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*. v. 7, p. 217–221.

ELLWANGER, J. H.; PRÁ, D.; RIEGER, A. & FRANKE, S.I.R. (2011). Influence of selenium nutritional status on the progression of HIV infection. *J. Brazilian Soc. Food Nutr*. v. 36, n. 2, p. 109-122.

FDA U.S. Food and Drug Administration. Antiretroviral drugs used in the treatment of HIV infection. 2014. Available in: <http://www.fda.gov/forconsumers/byaudience/forpatientadvocates/hivandaidsactivities/>

FERREIRA, B.E.; OLIVEIRA, I.M. & PANIAGO, A.M. (2012). Quality of life of people living with HIV/AIDS and its relationship with CD4+ lymphocytes, viral load and time of diagnosis. *Rev Bras Epidemiol*, v. 15, n. 1, p. 75-84.

FINCH, J.M. & TURNER, R.J. (1996). Effects of selenium and vitamin e on the immune responses of domestic animals. *Res. Vet. Sci.*, v. 60, p. 97–106.

GÜNTHARD, H.F. (2014). Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2014 recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. *JAMA*. v.23, p. 410-425.

HATFIELD, D.L., BERRY, M.J., GLADYSHEV, V.N. (2012). Selenium. New York, NY. Spring.

HERAS, I.L., PALOMO, M. & MADRID, Y. (2010). Selenoproteins: the key factor in selenium essentiality. State of the art analytical techniques for selenoprotein studies. *Anal Bioanal Chem*. v. 400, p. 1717-1727.

HOFFMANN, P.R. & BERRY, M.J. (2008). The influence of selenium on immune responses. *Mol. Nutr. Food Res*. v.52, p. 1273 – 1280.

HUANG, Z.; ROSE, A.H. & HOFFMANN, P.R. (2012). The Role of Selenium in Inflammation and Immunity: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities. *Antioxid Redox Signal*. v. 16, p. 705-43.

HURWITZ B.A et. al. (2007). Suppression of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Viral Load With Selenium Supplementation. *Arch Intern Med*, v. 167, p. 148-154.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM), Food And Nutrition Board. Dietary Reference intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. 2000. Available from: <http://www.iom.edu/Reports/2000/Dietary-Reference-Intakes-for-Vitamin-C-Vitamin-E-Selenium-and-Carotenoids.aspx>.

IRLAM J.H.; VISSE M.M.; ROLLINS N.N.; SIEGFRIED N. (2010). Micronutrient supplementation in children and adults with HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev*. v.8, (12).

- JONES, C.Y. et al. (2006). Micronutrient levels and HIV disease status in HIV-infected patients on highly active antiretroviral therapy in the Nutrition for Healthy Living cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr.* v.43, p. 475-482.
- KALANTARI, P. (2008). Thioredoxin Reductase-1 Negatively Regulates HIV-1 Transactivating Protein Tat-dependent Transcription in Human Macrophages. *J. Biol. Chem.* v. 283, p. 33183-33190.
- LANE, H.C. (2010). Pathogenesis of HIV infection. *Top HIV Med.* v. 18, p. 2-6.
- LIBMAN, H. Beth Israel Deaconess Medical Center Healthcare Associates HIV Manual. 2014. Available from: <<http://aidsetc.org/resource/hiv-manual>>.
- LOHMAN, T.G.; ROCHE, A.F. & MARTORELL R. (1988). Anthropometric standardization reference manual. Human Kinetics, Inc.
- MAARTENS, G.; CELUM, C. & LEWIN, S.R. (2014). HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. *Lancet.* v. 384, p. 258–71.
- MAYER, K.H. & VENKATESH, K.K. (2010) Antiretroviral Therapy as HIV Prevention: Status and Prospects. *Am J Public Health.* v. 100, p.1867-76.
- MEHDI, Y.; HORNICK, J.L.; ISTASSE, L. & DUFRASNE, I. (2013) Selenium in the Environment, Metabolism and Involvement in Body Functions. *Molecules.* v. 18, p. 3292-3311.
- MÉTIFIOT, M.; MARCHAND, C. & POMMIER, Y. (2013). HIV Integrase Inhibitors: 20-Year Landmark and Challenges. *Adv Pharmacol.* v. 67, p. 75-105.
- MONTESSORI, V. et al. (2004). Adverse effects of antiretroviral therapy for HIV infection. *Canadian Medical Association Journal,* v. 20, n. 2, p.170.
- MOTSENBOCKER M.A. & TAPPEL A.L. (1982). A selenocysteine-containing selenium-transport protein in rat plasma. *Biochim Biophys Acta.*v.719, p. 147-53.
- OGRA, Y. & ANAN, Y. (2012). Selenometabolomics Explored by Speciation. *Biol. Pharm. Bull.* v. 35, n. 11, p. 1863–1869.

- OKWARA, E.C. et al. (2013). Non protease inhibitor-based highly active antiretroviral therapy (HAART) improves micromineral status in HIV positive Nigerians. *Niger J Physiol Sci*, v. 28, p.105-7.
- ORTBLAD K.F. et al. (2013). The burden of HIV: insights from the Global Burden of Disease Study 2010. *AIDS*. v. 27, p. 2003-2017.
- PAGMANTIDIS, V. et al. (2008). Supplementation of healthy volunteers with nutritionally relevant amounts of selenium increases the expression of lymphocyte protein biosynthesis genes. *Am J Clin Nutr*. v.87, p.181–9.
- PEDRERO, Z. & MADRID, Y. (2009). Novel approaches for selenium speciation in foodstuffs and biological specimens: A review. *Analytica Chimica Acta*. v. 634, p. 135–152.
- PORTER, K.M. & SUTLIFF, R.L. (2012). HIV-1, reactive oxygen species, and vascular complications. *Free Radical Biology and Medicine*. v. 53, p. 143–159.
- QUAGLIARELLO V. (1982). The Acquired Immunodeficiency Syndrome: Current Status. *Yale J Biol Med*, v. 55, n. 5-6, p. 443-452.
- ROUSSEAU, M.C. et al. (2000). Influence of highly active antiretroviral therapy on micronutrient profiles in HIV-infected patients. *Ann Nutr Metab*. v.44, p. 212-216.
- SANMARTÍN C.; PLANO D.; FONT M. & PALOP J.A. (2011). Selenium and Clinical Trials: New Therapeutic Evidence for Multiple Diseases. *Current Medicinal Chemistry*, v. 18, p. 4635-4650.
- SCHOMBURG L. (2012). Selenium, selenoproteins and the thyroid gland: interactions in health and disease. *Nature Reviews Endocrinology*, v.8, p. 160-171.
- SHARP, P.M. & HAHN, B.H. (2011). Origins of HIV and the AIDS Pandemic. *Cold Spring Harb Perspect Med*. v. 1. (1).
- STEINBRENNER, H. et al. (2015). Dietary Selenium in Adjuvant Therapy of Viral and Bacterial Infections. *Adv. Nutr*. v.6, p. 73–82.

STEPHENSON, C.B. et al. (2007). Glutathione, glutathione peroxidase, and selenium status in HIV-positive and HIV-negative adolescents and young adults. *Am J Clin Nutr*, v. 85, p. 173–181.

SUZUKI K.T. & OGRA Y. (2002). Metabolic pathway for selenium in the body: speciation by HPLC-ICP MS with enriched Se. *Food Additives and Contaminants*, v. 19, p. 974-983.

UNAIDS World AIDS Day Report 2014. How to Get to Zero: Faster, Smarter, Better. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). 2014. Available from: http://www.unaids.org/sites/default/files/documents/20141118_FS_WADreport_en.pdf.

U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA National Nutrient Database for Standard Reference. 2012. Available from: http://www.ars.usda.gov/main/site_main.htm?modecode=80-40-05-25.

VALENTE, A. M. M. et al. (2005). Alterações metabólicas da Síndrome Lipodistrófica do HIV. *Arq. Bras. Endocrinol Metab.* v.49, p. 871-881.

YOUNG, J., et al. (2012). CD4 cell count and the risk of AIDS or death in HIV-Infected adults on combination antiretroviral therapy with a suppressed viral load: a longitudinal cohort study from COHERE. *PLoS Med.* v.9, (3).

ZHANG, Q. et al. (2013). Effects of Different Selenium Levels on Gene Expression of a Subset of Selenoproteins and Antioxidative Capacity in Mice. *Biol Trace Elem Res.* v. 154, p. 255–261.

Capítulo 2

INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO PELO HIV E DO USO DA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL NAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO, SELENOMETIONINA E PROTEÇÃO ANTIOXIDANTE

Autores: Lígia Moriguchi Watanabe¹, Fernando Barbosa Júnior², Alceu Afonso Jordão Júnior³, Anderson Marliere Navarro³

Afiliação:

¹Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de São Paulo – UNESP.

²Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – USP.

³Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – FMRP/USP.

Autor Correspondente: Lígia Moriguchi Watanabe. Endereço: Avenida Bandeirantes, 3900. Monte Alegre, 14049-900. Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. Telefone-fax: (55) (16) 3602 2466. E-mail: ligia.moriguchi@gmail.com

Artigo submetido à revista: Clinical Nutrition

Qualis A1

RESUMO

As deficiências nos compostos antioxidantes podem acelerar a progressão da doença por HIV influenciando no aumento do estresse oxidativo, que tem sido relacionado tanto com o uso da terapia antirretroviral (TARV) quanto com a própria infecção pelo HIV. O selênio tem um papel importante na infecção pelo HIV, sobretudo devido ao seu envolvimento na regulação do estresse oxidativo. Seus efeitos benéficos são dependentes da sua forma química e concentração, destacando-se a importância da especiação química. O presente estudo buscou avaliar se a infecção pelo HIV e o tempo de uso da TARV estão associados com maior dano oxidativo, baixas concentrações de selênio e seus metabólitos e uma menor proteção antioxidante da glutatona e da glutatona peroxidase. Trata-se de um estudo transversal, constituído por 120 indivíduos de ambos os sexos agrupados em: Grupo Controle (GC), HIV negativo, n=40; Grupo 1 (G1) HIV positivos em uso de TARV há mais de 5 anos, n=40; e Grupo 2 (G2), HIV positivos em uso de TARV há menos de 5 anos, n=40. Foram avaliados o selênio plasmático, selênio eritrocitário e a selenometionina. Os parâmetros antioxidantes foram a concentração da glutatona e a atividade da glutatona peroxidase. O estresse oxidativo foi medido por meio do malondialdeído. Avaliou-se ainda a ingestão alimentar e antropometria. A análise atual indicou que os indivíduos do presente estudo possuem a ingestão de selênio adequada e que a ausência de deficiência de selênio plasmático está associada ao uso da TARV. Foi observado que a infecção pelo HIV e o uso da TARV influenciam no estresse oxidativo, que por sua vez promove um aumento na expressão das defesas antioxidantes, medidas pela glutatona e glutatona peroxidase. Em relação a selenometionina, é possível que o aumento na sua concentração esteja relacionado à forma química do selênio ingerido, e que o uso da TARV contribua para a sua diminuição. Entretanto, mais estudos são necessários para compreender a influência da selenometionina nos indivíduos HIV positivos como parte importante da patogênese da infecção e do metabolismo dos indivíduos.

1. INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo tem sido amplamente documentado em pacientes infectados pelo HIV, uma vez que as infecções virais promovem a ativação prolongada do sistema imune contribuindo para o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ZHAO et al., 2000; STHEPHENSEN et al., 2005; STEINBRENNER et al., 2015). Numerosos estudos apontam o uso das terapias antirretrovirais (TARV) como potenciais contribuintes para o aumento das espécies reativas de oxigênio em pacientes HIV positivos (PORTER; SUTLIFF, 2012). Além disso, o uso da TARV tem sido associado a efeitos adversos que estão relacionados a alterações metabólicas importantes (DEEKS, 2009; LIBMAN, 2014).

O nível de dano oxidativo nos indivíduos infectados pelo HIV pode ser influenciado tanto pela extensão do estresse oxidativo quanto pela atividade das defesas antioxidantes do organismo (STHEPHENSEN et al., 2007). O aumento do estresse oxidativo pode acelerar a progressão da doença aumentando a replicação do HIV via sinalização do fator nuclear (NF)- κ B, bem como a taxa de mutação do genoma de RNA viral, levando a um maior dano para o hospedeiro (STHEPHENSEN et al., 2005; STEINBRENNER et al., 2015). Por outro lado, o equilíbrio na atividade das defesas antioxidantes, provenientes ou não da dieta e enzimas antioxidantes, protegem contra o estresse oxidativo podendo retardar a progressão da doença pelo HIV (STHEPHENSEN et al., 2005; STHEPHENSEN et al., 2007).

O selênio é um micronutriente essencial que tem sido amplamente associado a um papel importante na infecção pelo HIV, sobretudo devido o seu envolvimento na regulação do estresse oxidativo, intimamente relacionado ao estado redox da célula e com a regulação redox dos genes que são importantes para várias funções imunes (ZHAO et al., 2000; HOFFMANN; BERRY, 2008). Além disso, através da incorporação de selenoproteínas, sobretudo a glutationala peroxidase e tioredoxina redutase, o selênio tem sido mostrado como um potente regulador tanto da atividade da NF- κ B quanto da transcrição do HIV (ZHAO et al., 2000; HOFFMANN; BERRY, 2008).

Os efeitos benéficos do selênio para a saúde humana são fortemente dependentes da sua forma química e concentração (PEDRERO; MADRID, 2009). Sendo assim, destaca-se a importância da especiação química para a identificação e quantificação de um conjunto de metabólitos que contém selênio (OGRA; ANAN, 2012).

A caracterização desse metabolismo e a verificação da correlação com o estado de saúde do indivíduo podem auxiliar no estabelecimento de novas estratégias terapêuticas. Porém, os estudos recentes que avaliam o selênio em pacientes HIV positivos em uso prologado da TARV são limitados. Além disso, não existem dados disponíveis relacionando os metabólitos do selênio com a infecção pelo HIV. Dessa forma, o presente estudo buscou avaliar se a infecção pelo HIV e o tempo de uso da TARV estão associados com maior dano oxidativo, baixas concentrações de selênio e selenometionina e uma menor proteção antioxidante da glutathiona e da glutathiona peroxidase.

2. CASUÍSTICA E MÉTODOS

2.1. População do estudo

Trata-se de um estudo prospectivo, observacional e transversal, realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC/FMRP-USP). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição (parecer 551.355) e todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O recrutamento dos pacientes do grupo de estudo aconteceu nos ambulatórios da Unidade Especial de tratamento em Doenças Infecciosas (UETDI) do HC/FMRP-USP. O grupo controle foi composto por funcionários e alunos das diversas localidades do HC/FMRP-USP.

Foram avaliados 120 indivíduos adultos e de ambos os sexos. Desse total, 80 indivíduos soropositivos para o HIV em uso da TARV compuseram o grupo de estudo e foram divididos em: Grupo 1 (G1), composto por 40 participantes em uso da TARV há mais de 5 anos e Grupo 2 (G2), composto por 40 participantes em uso da TARV há menos de 5 anos. Compuseram o grupo controle, 40 indivíduos saudáveis e soronegativos para o HIV.

Os fatores de exclusão para participação no projeto foram: indivíduos usuários de drogas, o uso de suplemento contendo selênio em sua composição, morbidades adjacentes, doença tireoidiana, síndrome disabsortiva, Diabetes Mellitus, insuficiência renal e doenças inflamatórias crônicas, tais como doenças reumatológicas e autoimunes.

2.2. Dados coletados

Foram elaborados dois protocolos para obtenção de informações gerais e clínicas sobre os participantes: um para o grupo de estudo e outro para o grupo controle, sendo que no protocolo do grupo de estudo foram considerados os medicamentos retrovirais e o tempo de utilização, a duração da infecção pelo HIV, contagem das células TCD4+ e a quantificação da carga viral.

2.2.1. Avaliação antropométrica

O peso corporal (kg) foi aferido em balança eletrônica com precisão de 0,1kg e a estatura em estadiômetro com precisão de 0,1cm. O Índice de Massa Corpórea (IMC; em kg/m²) foi calculado para cada participante.

2.2.2. Avaliação do consumo alimentar de selênio

O consumo alimentar do selênio foi avaliado por registro alimentar de três dias consecutivos. As informações foram processadas por meio do programa de análise nutricional Dietpro®, versão 5i e em seu banco de dados foram inseridos valores de selênio de alimentos nacionais analisados por Ferreira et al (2002).

Para a recomendação do consumo de selênio, foi considerado o conceito proposto pela Dietary Reference Intakes (DRIs). Foi considerada na avaliação dietética a média do consumo de selênio obtido nos três registros alimentares.

2.2.3. Quantificação da carga viral e contagem dos linfócitos TCD4+

A determinação da quantificação da carga viral foi realizada no Laboratório de Carga Viral – Setor de Sorologia do HC/FMRP-USP, pelo método Abbott Real Time, sendo considerada indetectável quando os valores estavam abaixo de 50 cópias/mL (BRASIL, 2013)

No Laboratório de Citometria de Fluxo da Fundação Hemocentro do HC/FMRP-USP foi determinada a contagem dos linfócitos TCD4+ pelo método de citometria de fluxo, usando o Kit Multitest® e o citômetro da Facs Calibur® (Becton Dickinson – San Jose CA). Para a contagem dos linfócitos TCD4+ utilizou o critério de classificação para HIV/AIDS do Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 2012).

Os resultados da quantificação da carga viral e da contagem de linfócitos TCD4+ foram obtidos dos prontuários dos pacientes, sendo considerados os exames realizados dentro do período de 6 meses.

2.3. Avaliação bioquímica

A coleta das amostras de sangue foi realizada na Unidade de Pesquisa Clínica (UPC) do HC/FMRP-USP após 8 horas de jejum e a separação do sangue total para obtenção do soro, plasma e eritrócitos ocorreu logo após a coleta no Laboratório de Nutrição e Metabolismo da FMRP-USP. As amostras foram armazenadas a -80°C até o momento das análises.

2.3.1. Avaliação do dano oxidativo

2.3.1.1. Malondialdeído (MDA)

Esta análise foi feita no Laboratório de Nutrição e Metabolismo da FMRP-USP, de acordo com o método proposto por Gerard-Monnier et al., 1998, com algumas adaptações. Para a dosagem de MDA no plasma foram utilizados 100µl de amostra. A este foi adicionado 300µl de solução de 10mM de 1-metil-fenilindol em acetonitrila e metanol (2:1, v/v) e 75µl de ácido clorídrico (HCl) puro (37%). Logo após, os eppendorfs foram agitados em vortex e incubados em banho-maria a 45°C por 40 minutos. Após o banho, houve resfriamento das amostras em gelo e em seguida os eppendorfs foram centrifugados a 4000rpm por 10 minutos. Do sobrenadante foi feita a leitura de absorbância com comprimento de onda de 586nm. A concentração de MDA foi calculada comparando-a a uma curva de 1,1,3,3 - tetrametoxipropano (TMP) hidrolisado.

2.3.2. Glutationa (GSH)

A atividade da GSH foi determinada no Laboratório de Nutrição e Metabolismo da FMRP-USP, no plasma, pelo método adaptado ao proposto por da Costa et al., 2006. Foi utilizado 25µL de plasma, 1mL de Tris-EDTA, 25µL de DTNB e a concentração dos grupos sulfidríla foi calculada utilizando uma curva padrão de Glutationa reduzida.

2.3.3. Atividade da Glutationa Peroxidase (GPX)

A atividade da GPX foi determinada no Laboratório de Nutrição e Metabolismo da FMRP-USP, nos eritrócitos, pelo método adaptado ao proposto por Paglia e Valentine, 1967. O método se baseia na reação em que a GPX catalisa a oxidação da GSH reduzida por um hidroperóxido. Na presença de GPX e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), a GSH oxidada é convertida à forma reduzida com a oxidação concomitante do NADPH em NADPH⁺. A diminuição na absorvância a 340 nM foi, então, medida.

2.3.4. Selênio total

A determinação da concentração de selênio total no plasma e eritrocitário foi realizada no Laboratório de Toxicologia e Essencialidade de Metais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP, por um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), equipado com uma célula de reação dinâmica (DRC) (Perkin Elmer, Sciex Norwalk, CT EUA). As amostras foram diluídas na proporção de 1:50 com uma solução contendo Triton X-100 0,01% (v/v), HNO₃ 0,05% (v/v) e 10µg/L⁻¹ de ródio (Rh) como padrão interno. A concentração dos padrões de calibração analíticos variou de 0 a 50µg/L.

2.3.5. Especificação do Selênio - Selenometionina

A especificação química do selênio para identificação do selenometabólito selenometionina foi realizada no Laboratório de Toxicologia e Essencialidade de Metais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP, no plasma de 15 indivíduos, sendo 5 de cada grupo, de acordo com o método adaptado de Nyman et al., 2004. Os padrões dos selenoaminoácidos: seleno-l-metionina (S-3132), Se-(metil)-selenocisteína (M-6680) e Protease XIV (P5147) foram obtidos por Sigma-Aldrich. Para o preparo das amostras de plasma, 20mg de Protease XIV foi adicionada a 900µl de amostra e agitada em vórtex. Esta mistura foi incubada à temperatura ambiente durante 24h. Após a incubação, 100µl HNO₃ (1N) foi adicionado à mistura, agitada em vórtex, depois centrifugada a 3500 × g durante 10 min. A fração sobrenadante foi então filtrada utilizando um filtro de 0,25µm. A amostra foi diluída 5 vezes e após a diluição, 100µl foram injetados no HPLC ICP-MS para especificação de selenometionina utilizando a metilselenocisteína como padrão interno.

Para a especificação química do selênio foi utilizada a cromatografia líquida de alta performance (HPLC), acoplada ao ICP-MS. Uma bomba LC Perkin Elmer modelo G-200, um injetor de seis portas (Rheodyne 9725) e uma coluna de fase inversa (C8, 3 μ m, de 33mm x 4,6mm, Colunas Brownlee, PerkinElmer, EUA) constituem o sistema de LC. A saída a partir da coluna cromatográfica foi acoplada ao nebulizador de ICP-MS. As condições instrumentais foram: potencia de rádio frequência (rf): 1400W; taxa de fluxo plasmático: 15 L/min; taxa de fluxo do nebulizador: 1,25 L/min; resolução normal; modo scan: *time resolved acquisition* (TRA); tempo de permanência: 500ms; isótopo monitorado: massa 82. A fase móvel foi composta por: água-metanol (97:3, v/v) e a taxa de fluxo foi de 1ml/min.

3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

3.1. Variáveis categóricas

Para as variáveis categóricas aplicou-se o teste exato do qui-quadrado (χ^2) e os resultados foram apresentados em frequências e percentuais das mesmas.

3.2. Comparação entre grupos

O método Análise de Variância (ANOVA) foi utilizado para a comparação do selênio plasmático e eritrocitário, concentração da glutathiona, glutathiona peroxidase e MDA tanto entre os grupos GC, G1 e G2 quanto de acordo com o estado do HIV (positivo ou negativo). Quando houve diferença significativa utilizou-se o teste post hoc de Tukey. Para a selenometionina, a comparação nos mesmo grupos foi realizada pelo método de Kruskal Wallis com teste post hoc de Dunn. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão. Para todas as análises foi considerado significativo $p \leq 0,05$.

3.3. Análise de regressão

Foram previamente calculados os coeficientes de correlação entre as variáveis de interesse a fim de verificar a existência de relações lineares. Para essa análise utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson, exceto para a variável selenometionina, no qual utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman.

A análise de regressão teve como objetivo identificar preditores das variáveis antioxidantes entre as variáveis que representam as características pessoais, estado do HIV e ingestão de selênio e os preditores do estresse oxidativo entre as mesmas variáveis com a inclusão das variáveis antioxidantes. Buscou-se ainda, identificar a influência do

uso da TARV nas variáveis, além de verificar as variáveis preditoras do selenometabólito selenometionina.

As variáveis foram distribuídas em 6 grupos: características pessoais (idade, sexo e IMC), estado do HIV (positivo ou negativo), ingestão de selênio, antioxidantes (selênio plasmático, GSH e GPX), dano oxidativo (MDA) e especiação do selênio (selenometionina). O selênio eritrocitário foi utilizado como variável somente na análise da GPX. A análise de regressão linear múltipla foi utilizada para determinar primeiramente se o estado do HIV, que compreende os indivíduos HIV positivos (G1 e G2) e HIV negativos (GC); n=120, foi significativamente associado com as variáveis antioxidantes quando o próprio estado do HIV foi incluído com as características pessoais e a ingestão do selênio. A mesma abordagem foi utilizada para prever o dano oxidativo a partir das 4 primeiras variáveis descritas acima. Em seguida, utilizou-se a regressão linear múltipla apenas nos indivíduos HIV positivos (G1 e G2); n=80, a fim de verificar a influência da TARV nas variáveis.

4. RESULTADOS

4.1. Características da população

A média de idade dos participantes do estudo foi de $40,7 \pm 11,3$ anos. Os indivíduos do G1 e G2 tinham idade significativamente maior que os indivíduos do GC ($p < 0,001$) (**Tabela 1**). A amostra foi composta por 59 indivíduos do sexo masculino (49,2%) e 61 indivíduos do sexo feminino (50,8%). O percentual do sexo masculino foi significativamente superior no G1 e G2 em relação à GC (GC 25,0% < G1 57,5%; $p = 0,01$ e GC 25,0% < G2 65,0%; $p = 0,002$) (**Tabela 1**).

Em relação à avaliação antropométrica realizada por meio do IMC os indivíduos foram classificados como eutróficos ($18,5\text{--}24,9\text{kg/m}^2$) e sobrepeso ($25\text{--}29,9\text{kg/m}^2$) e não foram encontradas diferenças significativas nos valores de IMC entre os grupos (**Tabela 1**).

Na avaliação da ingestão de selênio, de acordo com os grupos de estudo, o consumo foi maior no GC do que no G1 e G2 ($p < 0,001$) (**Tabela 1**). Todos os grupos apresentaram adequação na ingestão de selênio de acordo com a recomendação de $45\mu\text{g}/\text{dia}$ proposta nas Dietary Reference Intakes (DRIs). Os alimentos contendo selênio mais frequentemente consumidos entre os grupos foram: castanha do Pará e cereais

integrais (consumo observado somente no grupo controle), ovo de galinha, pão francês, carne vermelha, frango, arroz polido, feijão carioca, leite de vaca e macarrão.

Os indivíduos do G1 apresentaram o tempo de sorologia positiva para o HIV e tempo de uso da TARV significativamente maior que os indivíduos do G2 ($p < 0,001$ para ambos) (**Tabela 1**), como se era esperado para esses parâmetros.

A contagem de células TCD4+ tanto no G1 quanto no G2 foi maior que 200 cel/mm³, sendo que no G1, a contagem de células TCD4+ foi significativamente maior do que no G2 ($p < 0,001$). Dois indivíduos do G1 (5%) e quatro indivíduos do G2 (10%) apresentaram contagem de carga viral detectável, ou seja, acima de 50 cópias/mm³, porém o valor mais alto de contagem foi de 310 cópias/mm³. Estes parâmetros indicam que os indivíduos HIV positivos do estudo em questão se encontravam estáveis imunologicamente, não sendo considerados pacientes em estágio avançado da doença. Além disso, os pacientes não possuíam morbidades adjacentes importantes.

Tabela 1: Idade, sexo, antropometria, selênio ingerido e características clínicas dos participantes de acordo com o grupo de estudo.

Variável	Grupo Controle (GC)	HIV+ em uso de TARV > de 5 anos (G1)	HIV+ em uso de TARV < de 5 anos (G2)
N	40	40	40
Idade (anos)	30,8 ^a ± 7,4	47,2 ^b ± 7,1	44,1 ^b ± 11,2
Sexo Masculino n (%)	10 ^a (25)	23 ^b (57,5)	26 ^b (65)
Sexo Feminino n (%)	30 ^a (75)	17 ^b (42,5)	14 ^b (35)
IMC (kg/m ²)	24,4 ± 4,4	26,1 ± 4,8	24,8 ± 4,1
Selênio ingerido (µg)	78,3 ± 82,9	45,6 ± 23,4	47,7 ± 35,5
Tempo de diagnóstico de HIV (meses)	-	161 ^a ± 46,5	87,8 ^b ± 89,9
Tempo de uso da TARV (meses)	-	147,2 ^a ± 39,2	33 ^b ± 19,3
Contagem de células TCD4 (cel/mm ³)	-	693,9 ^a ± 297,5	416 ^b ± 272,1
CV < 50 cópias/mm ³ n (%)	-	38 (95%)	36 (90%)

Nota: Teste de Análise de Variância (ANOVA). Os valores são expressos em média ± desvio padrão. Para a variável do sexo, feminino e masculino, e carga viral os valores são expressos em porcentagem e utilizou o teste χ^2 . Letras diferentes indicam diferença significativa com $p < 0,05$. CV= carga viral; TARV= terapia antirretroviral.

4.2. Selênio plasmático

A concentração de selênio total no plasma (**Tabela 2**) esteve adequada em todos os grupos (50-120µg/L), sendo significativamente maior no G1 do que no GC e G2 ($p < 0,01$). Quando a concentração de selênio plasmático foi comparada de acordo com o

estado do HIV, independente do uso da TARV, não houve diferença significativa entre os indivíduos HIV positivos e HIV negativos (**Tabela 3**).

A análise de regressão linear múltipla não indicou o estado do HIV, as características pessoais e a ingestão de selênio como preditores significativos da concentração do Se plasmático ($p=0,23$).

Tabela 2: Concentração de selênio no plasma e eritrócitos, GPX, GSH e MDA dos participantes de acordo com o grupo de estudo

Variável	HIV negativo (GC)	HIV positivo TARV>de 5 anos (G1)	HIV positivo TARV<de 5 anos (G2)
N	40	40	40
Se plasmático (µg/L)	69,4 ^a ± 26,1	88,4 ^b ± 37,4	72,5 ^a ± 24,3
Se eritrocitário (µg/L)	105,1 ± 40,1	102,1 ± 34,5	91,5 ± 27,4
GPX (U/mg de Hg)	87,0 ^a ± 19,9	115,1 ^b ± 29,5	111,5 ^b ± 41,8
GSH (nM/mL)	1,87 ^a ± 0,2	2,0 ^a ± 0,3	2,1 ^b ± 0,6
MDA (nmol/mL)	4,2 ^a ± 1,4	7,6 ^b ± 2,6	8,5 ^b ± 2,2

Nota: Teste de Análise de Variância (ANOVA). Os valores são expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa entre as médias com $p < 0,05$. TARV= terapia antirretroviral, GPX= glutathiona peroxidase, GSH= glutathiona, MDA= malondialdeído, Se= selênio, GC=grupo controle, G1= grupo1, G2= grupo 2.

Tabela 3: Concentração de selênio no plasma e eritrócitos, GPX, GSH e MDA dos participantes de acordo com o estado do HIV, independente do uso da TARV

Variável	HIV negativo (GC)	HIV positivo (G1+G2)	P
N	40	80	-
Se plasmático (µg/L)	69,4 ± 26,1	80,4 ± 32,3	0,063
Se eritrocitário (µg/L)	105,1 ± 40,1	96,8 ± 31,4	0,217
GPX (U/mg de Hg)	87,0 ± 19,9	113,3 ± 36,1	< 0,001
GSH (nM/mL)	1,87 ± 0,2	2,1 ± 0,5	0,015
MDA (nmol/mL)	4,2 ± 1,4	8,1 ± 2,4	< 0,001

Nota: Teste de Análise de Variância (ANOVA). Os valores são expressos em média ± desvio padrão. TARV= terapia antirretroviral, GPX= glutathiona peroxidase, GSH= glutathiona, MDA= malondialdeído, Se= selênio, GC=grupo controle, G1= grupo1, G2= grupo 2.

4.3. Selênio eritrocitário

O selênio eritrocitário esteve dentro dos padrões de normalidade em todos os grupos, e não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos (**Tabela 2**). Quando o selênio eritrocitário foi comparado de acordo com o estado do HIV, independente do uso da TARV, não houve diferença significativa entre os indivíduos HIV positivos e HIV negativos (**Tabela 3**).

4.4. Glutationa Peroxidase (GPX)

Em relação à atividade da glutathione peroxidase (**Tabela 2**), esta foi significativamente maior nos indivíduos do G1 e G2 quando comparada ao grupo GC ($p < 0,05$). Quando a atividade da glutathione peroxidase foi comparada de acordo com o estado do HIV, independente do uso da TARV, os indivíduos HIV positivos apresentaram concentrações significativamente maiores do que os HIV negativos (**Tabela 3**).

Na análise de regressão múltipla para a glutathione peroxidase foi incluída a variável selênio eritrocitário além das variáveis já utilizadas. O estado do HIV e o Se eritrocitário (**Tabela 4**) foram preditores significativos positivos da glutathione peroxidase ($R^2 = 0,17$; $p < 0,001$; $p = 0,002$).

4.5. Glutationa (GSH)

A concentração de glutathione (**Tabela 2**) foi significativamente maior nos indivíduos do G2 quando comparados aos indivíduos do GC ($p < 0,02$). Quando a concentração de glutathione foi comparada de acordo com o estado do HIV, independente do uso da TARV, os indivíduos HIV positivos apresentaram concentrações significativamente maiores do que os HIV negativos (**Tabela 3**). A análise de regressão múltipla indicou o estado do HIV (**Tabela 4**) como preditor significativo positivo e o sexo feminino como preditor significativo negativo da glutathione ($R^2 = 0,08$; $p < 0,012$).

4.6. Malondialdeído (MDA)

A concentração de malondialdeído (**Tabela 2**), foi significativamente maior nos indivíduos do G1 e G2 quando comparada ao GC ($p < 0,05$). Quando a concentração do malondialdeído foi comparada de acordo com o estado do HIV, independente do uso da TARV, os indivíduos HIV positivos apresentaram concentrações significativamente maiores do que os HIV negativos (**Tabela 3**).

A análise de regressão linear múltipla indicou o estado do HIV e o GSH (**Tabela 4**) como preditores significativos positivos da concentração de malondialdeído ($R^2 = 0,49$; $p < 0,001$). Quando a análise de regressão linear múltipla foi realizada nos indivíduos, independente do estado do HIV, foi observada uma associação positiva do malondialdeído com a glutathione peroxidase ($R^2 = 0,31$; $p = 0,01$).

4.7. Uso da TARV

A regressão linear múltipla nos pacientes HIV positivos (G1 e G2; n=80) incluindo o uso da TARV como variável contínua, não indicou o uso da TARV como preditor de nenhuma das variáveis antioxidantes ou oxidativa. Porém, foram verificadas correlações do uso da TARV com a sorologia ($R=0,76$; $p<0,001$), contagem de células TCD4+ ($R=0,72$; $p<0,001$), idade ($R=0,52$; $p<0,001$), selênio plasmático ($R=0,41$; $p<0,001$) e concentração de malondialdeído ($R=0,31$; $p<0,001$).

Tabela 4: Preditores significativos das variáveis antioxidantes (GPX e GSH) e oxidativa (MDA) de acordo com a análise de regressão múltipla para todos os indivíduos do estudo

Variável	Todos os indivíduos (n=120)		
	Coefficiente	SE	P
GPX¹			
Estado do HIV	29,543	8,213	<0,001
Selênio eritrocitário	0,291	0,090	0,002
GSH²			
Estado do HIV	0,214	0,104	0,041
Sexo	-0,166	0,077	0,033
MDA³			
Estado do HIV	4,131	0,568	<0,001
GSH	1,467	0,477	0,002

Nota: Teste de Análise de regressão linear multivariada. Nenhuma associação foi observada com o selênio plasmático, Índice de Massa Corpórea, idade ou ingestão de selênio. Estado do HIV: positivo ou negativo; SE= standart error, GPX= glutatona peroxidase, GSH= glutatona, MDA= malondialdeído.

¹ $R^2=0,17$;

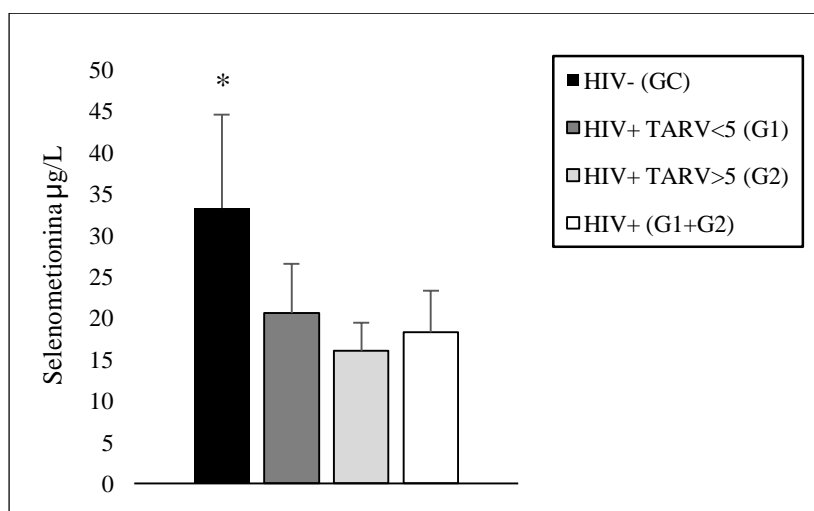
² $R^2=0,08$;

³ $R^2= 0,49$.

4.8. Especificação do selênio – Selenometionina

Na análise da especificação por HPLC-ICPMS, a concentração de selenometionina (**Figura 1**) foi significativamente maior nos indivíduos do GC quando comparada aos indivíduos do G1 e G2 ($p = 0,015$). Quando a concentração de selenometionina foi comparada de acordo com o estado do HIV, independente do uso da TARV, os indivíduos HIV negativos apresentaram concentrações significativamente maiores do que os indivíduos HIV positivos ($p=0,01$) (**Figura 1**). Foi observada ainda uma correlação negativa da concentração da selenometionina com o uso da TARV ($R=-0,52$; $p=0,048$).

Figura 1: Identificação da selenometionina por meio da especiação do selênio nos participantes



Nota: Teste de Kruskal Wallis. Os valores são expressos em média e desvio padrão. A concentração de selenometionina foi significativamente maior nos indivíduos do GC (HIV negativos) quando comparados ao G1 e G2 ($p=0,015$) e quando comparado aos indivíduos HIV positivos ($p=0,01$). TARV= terapia antirretroviral.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo buscou avaliar a associação da infecção pelo HIV em indivíduos imunologicamente estáveis e o tempo de uso da TARV com o dano oxidativo, as concentrações de selênio e selenometionina e a proteção antioxidante da glutathiona e GPX.

5.1. Selênio plasmático

Neste estudo, os indivíduos, independentemente do grupo, não apresentaram deficiência de selênio plasmático, sendo que os pacientes do grupo HIV positivo em uso de TARV há mais tempo (G1), apresentaram maiores concentrações de selênio plasmático quando comparados aos outros grupos (GC e G1). Além disso, foi verificada uma correlação positiva entre o uso da TARV e a concentração de selênio plasmático. Estudos recentes, que relacionam o estado do HIV com o uso da TARV, corroboram com os resultados obtidos em nosso trabalho, demonstrando a ausência de deficiência de selênio nos indivíduos HIV positivos, sobretudo relacionada ao uso da TARV. Hileman et al., 2015, encontraram em seu estudo que indivíduos adultos, HIV positivos, em uso prolongado da TARV, não apresentaram deficiências nos níveis plasmáticos de selênio. Além disso, o uso de Inibidores de Protease (antirretroviral) esteve associado com níveis

mais elevados de selênio. Rousseau et al., 2000, associaram o uso de diferentes esquemas de TARV com a redução nas deficiências de zinco e selênio, além da redução na perda de peso. De Menezes et al., 2015, encontraram em seu estudo que os indivíduos HIV positivos em uso da TARV há mais tempo não apresentaram deficiência na concentração de selênio, contrastando com a deficiência encontrada nos indivíduos HIV positivos tanto em uso da TARV há menos tempo quanto nos indivíduos sem uso da TARV. O estudo de Stephensen et al., 2007, também não observou deficiências no selênio plasmático nos indivíduos HIV positivos e associou o uso da TARV nos indivíduos do estudo REACH como fator contribuinte para a manutenção das concentrações adequadas de selênio no plasma.

Em contraste com o presente estudo, alguns estudos têm reportado uma associação significativa entre baixas concentrações de selênio e a infecção pelo HIV (DWORKIN et al., 1988; BECK et al., 1990; BAUM et al., 1997; FORRESTER et al., 2009). Nesses estudos existem vários fatores contribuintes para a deficiência do selênio tais como: ingestão inadequada, má absorção, uso de drogas, doenças adjacentes importantes, estágio avançado da doença, baixa contagem de células TCD4+. Esses fatores não são observados como interferentes no presente estudo pois os indivíduos HIV positivos possuem uma ingestão adequada de selênio e macronutrientes (dado não mostrado) e foram considerados como critérios de exclusão: os indivíduos com alguma doença adjacente importante além do HIV, síndrome disabsortiva e usuários de drogas. Além disso, como reportado anteriormente, os indivíduos HIV positivos do estudo em questão encontravam-se estáveis imunologicamente, com a contagem de células TCD4+ acima de 200 cel/mm³ e carga viral indetectável, não sendo considerados pacientes em estágio avançado da doença.

Os estudos com HIV disponíveis na literatura utilizam o selênio plasmático ou sérico para avaliar as concentrações de selênio dos indivíduos (BECK et al., 1990; CIRELLI et al., 1991; HENDERSEN et al., 1997; ROUSSEAU et al., 2000; STEPHENSEN et al., 2007; KHALILI et al., 2008; AKINBORO et al., 2013; FLAX et al., 2014; DE MENEZES et al., 2015; HILLEMANN et al., 2015). Porém, de acordo com Van Dael e Deelstra, 1993, comparado ao selênio plasmático, o selênio eritrocitário responde mais lentamente à mudança do estado nutricional relativo a esse mineral devido à meia-vida dos eritrócitos de 120 dias e, por isso, pode ser considerado um índice de médio prazo para a avaliação do estado nutricional de selênio. No presente estudo, todos os indivíduos apresentaram valores dentro da normalidade para o selênio eritrocitário e o estado do

selênio avaliado por meio das concentrações de selênio eritrocitário não diferiu nos indivíduos HIV positivos em relação aos indivíduos HIV negativos, o que pode justificar a escolha do plasma ou soro como parâmetros mais adequados para identificar as concentrações de selênio nos estudos com HIV.

5.2. Glutationa peroxidase

A atividade da glutaciona peroxidase nos eritrócitos foi maior nos indivíduos HIV positivos do que nos indivíduos HIV negativos. O mesmo foi encontrado nos estudos de Look et al., 1997, Onguro et al., 2006, Stephesen et al., 2007 e Velazquez et al., 2009. Uma possível explicação para esse resultado se deve ao fato de que a infecção pelo HIV promove o aumento no estresse oxidativo durante a eritropoiese, que por sua vez, aumenta os níveis de expressão da glutaciona peroxidase-1, a forma predominante da enzima nos eritrócitos (SUNDE, 2001).

Foi verificada uma associação positiva com o estado do HIV e a glutaciona peroxidase. Estudos demonstraram que tanto a glutaciona peroxidase quanto a tioredoxina redutase são potentes reguladores da NF- κ B, que é o primeiro fator celular envolvido na regulação da transcrição pelo HIV, porém com funções diferentes. É razoável, portanto, que o HIV poderia ter evoluído para participar diretamente nos processos regulatórios, através da codificação de suas próprias selenoproteínas (ZHAO et al., 2000).

A glutaciona peroxidase-1 encontra-se difundida por todo organismo. Sua atividade é amplamente expressa no fígado, rins e pulmões e eritrócitos (MEHDI et al., 2013). Nos eritrócitos, 10-15% do selênio é incorporado glutaciona peroxidase-1, justificando a associação positiva observada no presente estudo da glutaciona peroxidase-1 com o selênio eritrocitário.

5.3. Glutaciona

Os indivíduos HIV positivos não apresentaram deficiência nas concentrações de glutaciona, sendo os valores maiores do que nos indivíduos HIV negativos. Além disso, o estado do HIV foi positivamente associado a concentração da glutaciona. A ausência na deficiência da glutaciona por parte dos indivíduos HIV positivos foi observada no estudo de Pirmohamed et al., 1996 e Aukrust et al., 2003. O aumento nos níveis de GSH intracelular para os indivíduos infectados pelo HIV é importante pois promove uma inibição da replicação viral por vários mecanismos de ação tais como o bloqueio do

estresse oxidativo, que é responsável pela ativação do NFkB; indução de mudanças redox no domínio CD4 D2, interferindo na entrada do HIV; inibição do ligamento e estabilização da conformação nativa das proteínas virais prevenindo a produção de partículas virais infectantes; inibição do processo de transcriptase reversa do HIV (FRATERNALE et al., 2009). Estudos recentes têm encontrado um estado de deficiência da glutatona nos indivíduos HIV positivos, contrário aos achados no presente estudo, e que o aumento da glutatona não ocorre naturalmente nesses indivíduos, sendo necessário o uso da glutatona como agente terapêutico ou outras substâncias (como por exemplo as moléculas pro-GSH) capazes de exercer efeitos antivirais comparáveis ou superiores aos observados com a glutatona (LOOK et al., 1997; DE ROSA et al., 2000; NAKAMURA et al., 2002; SEKHAR et al., 2015). As diferenças da concentração da glutatona nos pacientes HIV positivos podem ser relacionadas ao estadiamento da doença (STEPHENSEN et al., 2007), contagem de células TCD4, uma vez que a baixa contagem de linfócitos TCD4+ está associada a baixas concentrações de glutatona (FERRUCCI et al., 2012) e diferenças entre metodologias (PIRMOHAMED et al., 1996).

5.4. Malondialdeído

Os indivíduos HIV positivos obtiveram maiores concentrações de malondialdeído do que os indivíduos HIV negativos. Além disso, uma associação positiva entre o estado do HIV e maiores concentrações de malondialdeído foi verificada por meio da análise de regressão. Esses resultados estão de acordo com estudos encontrados na literatura demonstrando que o estresse oxidativo nos indivíduos HIV positivos pode ser evidenciado pelas concentrações de malondialdeído (SÖNNERBORG et al., 1988; GIL et al., 2003; STEPHENSEN et al., 2007; TETO et al., 2013). Foi encontrada ainda uma correlação positiva entre o uso da TARV e as concentrações de malondialdeído, indicando uma possível influência da TARV no estresse oxidativo como visto em alguns estudos (STEPHENSEN et al., 2005; ROC et al., 2007; STEPHENSEN et al., 2007).

No presente estudo foi verificada uma associação positiva do MDA com a glutatona peroxidase, o mesmo encontrado no estudo de Stephensen et al., 2007 e que está em acordo com o descrito por Townsend et al., 2003, em que a expressão da glutatona peroxidase é induzida pelo estresse oxidativo gerando uma expressão incomum da glutatona peroxidase que tem sido associada com uma ampla variedade de patogêneses incluindo a hepatite, HIV e inúmeros cânceres. Stephensen et al., 2007, relaciona esta

associação a uma resposta adaptativa dos indivíduos ao estresse oxidativo.

5.5. Selenometionina

Esse é o primeiro estudo com dados para especiação da selenometionina em indivíduos HIV positivos. Apesar de inúmeros estudos testarem os níveis de selênio total sérico, não existem dados publicados medindo as concentrações de selenometionina séricos. A quantificação e especiação do selênio podem de ser grande valor para identificar quanto e quais formas do selênio agem como quimioprotetores na infecção pelo HIV e outras patologias.

A selenometionina é a principal fonte de compostos de selênio presente em alimentos de origem vegetal e é o principal precursor para síntese de selenocisteína que por sua vez é incorporado as proteínas para a síntese de selenoproteínas, tal como a glutathione peroxidase (DUNTAS; BENVENGA, 2015). É uma forma amplamente utilizada para suplementação devido a elevada biodisponibilidade e baixa toxicidade (COMINETTI; COZZOLINO, 2009; WEEKLEY; HARRIS, 2013). Dados recentes da literatura sugerem que compostos contendo selênio na dieta podem ser considerados pró-drogas, cuja atividade biológica depende da atividade das várias vias metabólicas e o estado redox de células e tecidos (WEEKLEY; HARRIS, 2013). Os mecanismos antioxidante e pró-oxidantes desses compostos têm sido associados com as suas propriedades de prevenção e tratamento de doenças (WEEKLEY; HARRIS, 2013). Além disso, estudos recentes verificaram que os selenocompostos podem ser benéficos em várias patologias, incluindo a cicatrização de feridas, aterosclerose e doenças cardiovasculares, justamente através da sua capacidade para modular as vias intracelulares de sinalização redox relacionados com respostas antioxidantes e anti-inflamatórias (CARROLL et al., 2015). No presente estudo, as concentrações de selenometionina foram maiores nos indivíduos HIV negativos quando comparados aos HIV positivos. Uma possível explicação para esse resultado se baseia na qualidade do selênio ingerido. Os indivíduos HIV negativos apresentaram um maior e mais frequente consumo de castanha do Pará e cereais integrais, ricos em selenometionina, no qual a biodisponibilidade e a taxa de absorção são superiores (DUNTAS; BENVENGA, 2015), em comparação aos indivíduos HIV positivos. Curiosamente, as concentrações da selenometionina foram negativamente associadas ao tempo de uso da TARV, indicando que quanto maior o tempo de uso da TARV menores as concentrações de selenometionina. Dessa forma, o tempo de uso prolongado da TARV pelos indivíduos HIV positivos do presente estudo poderia justificar as

menores concentrações de selenometionina encontradas nesses indivíduos quando comparados aos indivíduos HIV negativos.

6. CONCLUSÃO

A análise atual indicou que o uso da TARV atua como contribuinte na manutenção das concentrações adequadas de selênio no plasma evitando a deficiência nos indivíduos HIV positivos desse estudo, considerados imunologicamente estáveis e sem patologias adjacentes importantes. O aumento no estresse oxidativo, medido pelo malondialdeído nos indivíduos, responsável por promover a maior expressão das defesas antioxidantes, foi fortemente influenciado pela presença do HIV nos indivíduos. Além disso, a correlação positiva entre o uso da TARV e as concentrações de malondialdeído, indica uma possível influência da TARV no estresse oxidativo

A concentração da selenometionina plasmática pode ser relacionada com a qualidade do selênio ingerido por meio da alimentação. Além disso, a menor concentração da selenometionina nos indivíduos HIV positivos do presente estudo pode ser relacionada ao tempo prolongado de o uso da TARV. É importante ressaltar que os dados para análise da selenometionina no presente estudo se baseiam em uma pequena sub-amostra da amostra estudada e mais estudos são necessários para verificar a importância da selenometionina nos indivíduos HIV positivos, não apenas como forma de suplementação, mas como parte importante da patogênese da infecção e do metabolismo dos indivíduos.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer a Unidade Especial de Tratamento a Doenças Infecciosas (UETDI) - HC/FMRP, USP e os voluntários que participaram do estudo. Nossos agradecimentos ao Professor Bruno Lemos Batista – UFABC pelo auxílio na metodologia.

FINANCIAMENTO

O projeto foi financiado pela Fundação de Pesquisa de São Paulo - FAPESP, sob concessão: 2013/25228-4; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível

REFERÊNCIAS

AKINBORO, A.O.; ONAYEMI, O.; AYODELE, O.E.; MEJIUNI, A.D.; ATIBA, A.S. The impacts of first line highly active antiretroviral therapy on serum selenium, cd4 count and body mass index: a cross sectional and short prospective study. *Pan African Medical Journal*, v. 15, 2013.

AUKRUST, P.; MULLER, F.; SVARDAL, A.M.; UELAND, T.; BERGE, R.K.; FROLAND, S.S. Disturbed glutathione metabolism and decreased antioxidant levels in human immunodeficiency virus-infected patients during highly active antiretroviral therapy—potential immunomodulatory effects of antioxidants. *J Infect Dis*, v.188, p. 232– 8, 2003.

BAUM, M.K.; SHOR-POSNER, G.; LAI, S.; et al. High risk of HIV-related mortality is associated with selenium deficiency. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*, v. 15, p. 370 – 4, 1997.

BECK, K.W.; SCHRAMMEL, P.; HEDL, A.; JAEGER, H.; KABOTH, W. Serum trace element levels in HIV-infected subjects. *Biol Trace Elem Res*, v. 25, p. 89–96, 1990.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico AIDS-DST, ano II, nº1, 2013. Disponível em: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexps/publicacao/2013/55559/_p_boletim_2013_internet_pdf_p51315.pdf. Acesso em: set 2014.

CARROLL, L.; DAVIES, M.J.; PATTISON, D.I. Reaction of low-molecular-mass organoselenium compounds (and their sulphur analogues) with inflammation-associated oxidants. *Free Radic Res. Jun.*, v. 49, n. 6, p.750-67, 2015.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. HIV Classification: CDC and WHO Staging Systems; 2012. Disponível em: http://www.aidsetc.org/aidsetc?page=cg-205_hiv_classification. Acesso em: jun 2014.

DE ROSA, S.C.; ZARETSKY, M.D.; DUBS, J.G., et al. N-acetylcysteine replenishes glutathione in HIV infection. *Eur. J. Clin. Invest.*, v.30, n.10, p. 915–929, 2000.

CIRELLI, A.; CIARDI, M; DE SIMONE, C.; SORICE, F.; GIORDANO, R.; CIARALLI, L.; CONSTANTINI, S. Serum selenium concentration and disease progress with HIV-infection. *Clin. Biochem.*, v. 24, p. 211-214, 1991.

COMINETTI, C.; COZZOLINO, S.M.F. Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes - Selênio / ILSI Brasil (2009). Disponível em: <http://www.ilsa.org/Brasil/Documents/08%20-%20Sel%C3%AAnio.pdf>. Acesso em: dez 2014.

COSTA, C.M.; SANTOS, R.C.C.; LIMA, E.S. A simple automated procedure for thiol measurement in human serum samples. *J Bras Patol Med Lab*, v. 42, n. 5, p. 345-350, 2006.

DEEKS, S.G. Immune dysfunction, inflammation, and accelerated aging in patients on antiretroviral therapy. *Top HIV Med*, v. 17, n. 4, p. 118-23, 2009.

DUNTAS, L.H.; BENVENGA, S. Selenium: an element for life. *Endocrine*, v.48, p. 756–775, 2015.

DWORKIN, B.M.; ROSENTHAL, W.S.; WORMSER, G.P.; et al. Abnormalities of blood selenium and glutathione peroxidase activity in patients with acquired immunodeficiency syndrome and AIDS-related complex. *Biol Trace Elem Res*, v.15, p. 167–77, 1988.

FERRUCCI, A.; MICHAEL R. NONNEMACHERB,C, ÉRIC A. COHEND,E, BRIAN WIGDAHL. Extracellular human immunodeficiency virus type 1 viral protein R causes reductions in astrocytic ATP and glutathione levels compromising the antioxidant reservoir. *Virus Research*, v.167, p.358–369, 2012.

FLAX, V.L.; ADAIR, L.S.; ALLEN, L.H. et al. Plasma Micronutrient Concentrations Are Altered by Antiretroviral Therapy and Lipid- Based Nutrient Supplements in Lactating HIV- Infected Malawian Women. *J Nutr*. doi: 10.3945/jn.115.212290, 2015.

FORRESTER JE, WANG XD, KNOX TA, BOREK CG, TANG AM, JOHNSON EJ. Factors associated with serum retinol, alpha-tocopherol, carotenoids, and selenium in Hispanics with problems of HIV, chronic hepatitis C, and drug use. *J Public Health Policy*, v.30, p.285–99, 2009.

FRATERNALE, A.; PAOLETTI, M.F.; CASABIANCA, A.; NENCIONI L.; GARACI, E.; PALAMARA, A.T.; MAGNAN, M. GSH and analogs in antiviral therapy. *Molecular Aspects of Medicine*, v. 30, p. 99–110, 2009.

GERARD-MONNIER, D.; ERDELMEIER, I.; REGNARD, K.; MOZE-HENRY, N.; YADAN, J.C.; CHAUDIERE, J. Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chem Res Toxicol*, v. 11, n. 10,1176-83, 1998.

GIL, L.; MARTINEZ, G.; GONZALEZ, I. et al. Contribution to characterization of oxidative stress in HIV/AIDS patients. *Pharmacol Res*, v. 47, p. 217–24, 2003.

HENDERSON, R.A.; TALUSAN, K.; HUTTON, N.; YOLKEN, R.H.; CABALLERO, B. Serum and plasma markers of nutritional status in children infected with the human immunodeficiency virus. *J Am Diet Assoc.*, v. 97, p. 1377- 81, 1997.

HILEMAN, C.O.; SAHERA DIRAJLAL-FARGO; SUET KAM LAM., et al. Plasma selenium concentrations are sufficient and associated with protease inhibitor use in treated hiv-infected adults. doi: 10.3945/jn.115.214577, 2015.

HOFFMANN, P.R.; BERRY, M.J. The influence of selenium on immune responses. *Mol. Nutr. Food Res*. v.52, p. 1273 – 1280, 2008.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM), FOOD AND NUTRITION BOARD. Dietary Reference intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. National Academy Press, Washington D.C., p. 1-20. Disponível em: <http://www.iom.edu/Reports/2000/Dietary-Reference-Intakes-for-Vitamin-C-Vitamin-E-Selenium-and-Carotenoids.aspx>. Acesso em: jul 2014.

KHALILI, H.; SOUDBAKHSH, A.; HAJIABDOLBAGHI, M.; DASHTI-KHAVIDAKI, S.; POORZARE, A.; SAEEDI, A.A.; SHARIFIFAR, R. Nutritional status and serum zinc and selenium levels in Iranian HIV infected individuals. *BMC Infectious Diseases*, v. 8, p.165, 2008.

LIBMAN, H. Beth Israel Deaconess Medical Center Healthcare Associates HIV Manual, 2014. Disponível em: <<http://aidsetc.org/resource/hiv-manual>>. Acesso em: jun 2014.

LOOK, M.P.; ROCKSTROH, J.K.; RAO, G.S.; KREUZER, K.A.; BARTON, S.; et al. Serum selenium, plasma glutathione (GSH) and erythrocyte glutathione peroxidase (GSH-Px) levels in asymptomatic versus symptomatic human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) infection. *Eur J Clin Nutr*, v. 51, p. 266–272, 1997.

MEHDI, Y.; HORNICK, J.L.; ISTASSE, L.; DUFRASNE, I. Selenium in the Environment, Metabolism and Involvement in Body Functions. *Molecules*. v. 18, p. 3292-3311, 2013.

DE MENEZES BARBOSA E.G.M.; BARBOSA-JÚNIOR F.; MACHADO A.A.; NAVARRO A.M. A longer time of exposure to antiretroviral therapy improves selenium levels. *Clinical Nutrition*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2014.03.012>, 2015.

NAKAMURA H, MASUTANI H, YODOI J. Redox imbalance and its control in HIV infection. *Antioxid Redox Signal*, 4:455–464, 2002.

NYMAN, D.W.; STRATTON, M.S.; KOPPLIN, M.J.; DALKIN, B.L.; NAGLE, R.B.; GANDOLFI, A.J. Selenium and selenomethionine levels in prostate cancer patients. *Cancer Detection and Prevention*, v. 28, p. 8–16, 2004.

OGRA, Y.; ANAN, Y. Selenometabolomics Explored by Speciation. *Biol. Pharm. Bull.*

OGUNRO, P.S.; OGUNGBAMIGBE, T.O.; ELEMIE, P.O.; EGBEWALE, B.E.; ADEWOLE, T.A. Plasma selenium concentration and glutathione peroxidase activity in HIV-1/AIDS infected patients: a correlation with the disease progression. *Niger Postgrad Med J*, v.13 p. 1–5, 2006.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab & Clin Med*, v. 70, n.1, p. 159-169, 1967.

PIRMOHAMED M, WILLIAMS D, TINGLE MD, et al. Intracellular glutathione in the peripheral blood cells of HIV-infected patients: failure to show a deficiency. *AIDS* 1996;10:501–7.

PORTER, K.M.; SUTLIFF, R.L. HIV-1, reactive oxygen species, and vascular complications. *Free Radical Biology and Medicine*. v. 53, p. 143–159, 2012

RAJAGOPAL V. SEKHAR, CHUN W. LIU AND STEPHANIE RICE. Increasing glutathione concentrations with cysteine and glycine supplementation lowers inflammation in HIV patients. *AIDS*, v. 29, p.1899–1904, 2015.

ROC, A.C.; ANCES, M.B.; CHAWLA, S.; KORCZYKOWSKI, M.; WOLF, R.L.; KOLSON, D.L.; DETRE, J.A.; POPTANI, H. Detection of Human Immunodeficiency Virus–Induced Inflammation and Oxidative Stress in Lenticular Nuclei With Magnetic Resonance Spectroscopy Despite Antiretroviral Therapy, v. 64, n. 9, 2007.

ROUSSEAU, M.C.; MOLINES, C.; MOREAU, J.; DELMONT, J. Influence of highly active antiretroviral therapy on micronutrient profiles in HIV-infected patients. *Ann Nutr Metab*, v. 44, p. 212–6, 2000.

STEINBRENNER, H.; AL-QURAI SHY, S.; DKHIL, M.A.; WUNDERLICH, F.; HELMUT, S. Dietary Selenium in Adjuvant Therapy of Viral and Bacterial Infections. *Adv Nutr*, v. 6, p. 73–82, 2015.

STEPHENSEN, C.B.; MARQUIS, G.S.; DOUGLAS, S.D.; WILSON, C.M. Immune activation and oxidative damage in HIV-positive and HIV-negative adolescents. *J Acquir Immune Defic Syndr.*, v.38, p.180–90, 2005.

STEPHENSEN, C.B., MARQUIS, G.S., DOUGLAS, S.D., KRUZICH, L.A., WILSON, C.M. Glutathione, glutathione peroxidase, and selenium status in HIV-positive and HIV-negative adolescents and young adults. *Am J Clin Nutr*, v.85: p. 173–181, 2007.

SÖNNERBORG, A.L.; CARLIN, G.; AKERLUND, B.; JARSTRAND, C. Increased production of malondialdehyde in patients with HIV infection. *Scand J Infect Dis.*, v. 20, n.3, p. 287-90, 1988.

SUNDE RA. Selenium. In: O’Dell, B.L.; Sunde, R.A. (eds.) *Handbook of nutritionally essential mineral elements*. New York: Marcel Dekker, p. 493-556, 2001.

TETO, G.; KANMOGNE, G.D.; TORIMIRO, J.N.; ALEMNJI, G.; NGUEMAIM, F.N.; TAKOU, D.; NANFACK, A.; TAZOACHA, A. Lipid Peroxidation and Total Cholesterol in HAART-Naïve Patients Infected with Circulating Recombinant Forms of Human Immunodeficiency Virus Type-1 in Cameroon, 2013

TOWNSEND, D.M.; TEWA, K.D.; TAPIERO, H. The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 57, p. 145–155, 2003.

VAN DAEL, P.; DEELSTRA, H. Selenium. *Int J Vitam Nutr Res*, v. 63, n. 4, p. 312-6, 1993.

VELAZQUEZ, I.; PLAUD, M.; WOJNA, V.; SKOLASKY, R.; LASPIUR J.P.; MELENDEZ, L.M. Antioxidant enzyme dysfunction in monocytes and CSF of Hispanic women with HIV-associated cognitive impairment. *J Neuroimmunol*, v. 206, p.106–111, 2009.

WEEKLEY, C.M.; HARRIS, H.H. Which form is that? The importance of selenium speciation and metabolism in the prevention and treatment of disease. *Chem. Soc. Rev.* v. 42, p. 8870–8894, 2013.

ZHAO, L.; COX, A.G.; RUZICKA, J.A.; BHAT, A.A.; ZHANG, W.; TAYLOR, E.W.
Molecular modeling and in vitro activity of an HIV-1-encoded glutathione peroxidase.
Proc Natl Acad Sci USA; v. 97, p. 6356 – 61, 2000.