



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU**

“Translocação microbiana, inflamação e desequilíbrio do sistema *redox*  
na gestação e pós parto de mulheres infectadas pelo HIV”

**VANESSA MARTINEZ MANFIO**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para Título de Doutorado em Doenças Tropicais.

Botucatu

Fevereiro, 2020

Vanessa Martinez Manfio

“Translocação microbiana, inflamação e desequilíbrio do sistema *redox*  
na gestação e pós parto de mulheres infectadas pelo HIV”

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para Título de Doutorado em Doenças Tropicais.

**Programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais**

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup> Associada Lenice do Rosário de Souza

**Coorientadora:** Dr<sup>a</sup> Karen Ingrid Tasca

Botucatu

Fevereiro, 2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Manfio, Vanessa Martinez.

Translocação microbiana, inflamação e desequilíbrio do sistema redox na gestação e pós parto de mulheres infectadas pelo HIV / Vanessa Martinez Manfio. - Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Lenice do Rosário de Souza

Coorientador: Karen Ingrid Tasca

Capes: 40101096

1. HIV. 2. AIDS (Doença). 3. Estresse oxidativo.  
4. Gestantes. 5. Inflamação. 6. Resposta imune.

Palavras-chave: Ativação imune; Estresse oxidativo; Gestantes; HIV; AIDS; Translocação microbiana.

# Agradecimentos

## **Minha família....**

Cibele e Anselmo, meu pais, que indiretamente incentivaram e fortaleceram meu percurso.  
Natália, minha irmã, pelo apoio emocional, companheirismo, amizade e amor que sempre me foi dado em toda vida.

Vítor obrigada pelo amor, apoio, dedicação para comigo e nosso filho.

Pedro meu filho, você é o motivo da minha força.

Em especial a minha orientadora, **Lenice**, obrigada por todo carinho, acolhimento, compreensão e críticas que me fortaleceram e fez-me sentir segura durante todos estes anos. Muito Obrigada, você é um “pedaço” da minha vida da qual não me esquecerei.

Também agradeço à minha amiga e coorientadora **Karen**, você faz parte da minha evolução, da minha construção como pessoa e profissional.

Aos meus colegas do **laboratório** que convivi durante todos estes anos e em especial aos que se tornaram mais que colegas, agradeço à vocês pelo companheirismo e pela oportunidade de tê-los como amigos.

Às minhas **pacientes**, sem vocês este trabalho não seria desenvolvido.

À todos os funcionários do **SAE de infectologia, UNIPEX, Departamento de Doenças Tropicais e a secretaria da pós-graduação.**

Agradeço à **CAPES**, pela bolsa de doutorado.

Aos **membros da banca de qualificação** pelas sugestões e críticas.

E finalmente, agradeço **aos membros da defesa desta TESE**, Alexandrina, Igor, Reinaldo, Geraldo e Lenice.

## RESUMO

**Introdução:** O estado redox, translocação microbiana e ativação imune são processos pouco estudados em gestantes infectadas pelo HIV. Estes temas têm extrema relevância, afinal, podem comprometer a homeostasia de processos fisiológicos indispensáveis para o desenvolvimento intrauterino e evolução gestacional, ou contribuir para aquisição de comorbidades associadas ou não à aids nestas mulheres. **Objetivo:** Avaliar a translocação microbiana, ativação imune e estado *redox* durante a gestação e pós-parto de mulheres infectadas pelo HIV. **Casuística e metodologia:** As 39 mulheres incluídas pertenceram aos seguintes grupos: 13 gestantes HIV+, 10 gestantes HIV-, 10 mulheres não grávidas HIV- e, seis mulheres não grávidas HIV+. Foram coletados dados clínicos e sociodemográficos pela análise de prontuários e entrevistas. O sangue foi coletado em um único momento, para as não gestantes, e em três momentos para as gestantes, sendo: primeiro ou segundo trimestres (M0), pré-parto (M1) e pós-parto (M2). Foram analisados os seguintes parâmetros de estresse oxidativo e translocação microbiana, respectivamente: atividade da peróxido dismutase (SOD), catalase (CAT), carbonilação proteica, proteína de ligação de ácidos graxos intestinais (iFABP), lipopolissacarídeo (LPS), *cluster* de diferenciação 14 solúvel (sCD14) e anticorpos do *core* da endotoxina (EndoCAb, IgG, IgA e IgM). A análise estatística foi baseada em dois modelos, um fatorial, considerando dois fatores de classificação (gestação e infecção), e um longitudinal para os grupos, combinando gestação e infecção. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido de Tukey e distribuição Gamma seguido de Wald, considerando nível de significância de 5%.

**Resultados:** A média de idade geral foi de 31,5 ( $\pm 7,18$ ) anos. Para as gestantes infectadas, as contagens de linfócitos T CD4+ apresentaram-se em sua grande maioria, acima de 500 células/mm<sup>3</sup>, enquanto que 54,0% dessas mulheres possuíam CV acima do limite de detecção no momento da inclusão no estudo. Na avaliação do estado *redox* pelo modelo longitudinal, as gestantes (HIV+ e HIV-) não apresentaram alteração na atividade de SOD, entretanto, a atividade de CAT foi aumentada no pós-parto das infectadas ( $p=0,03$ ) e no pré- e pós-parto das não infectadas ( $p=0,0004$  e  $p=0,001$ ). A elevação da carbonilação ocorreu apenas no pré-parto das gestantes não infectadas ( $p=0,01$ ). Pelo modelo fatorial, maiores atividades de SOD e CAT foram observadas nas HIV+, tanto nas mulheres que estavam nos meses iniciais da gestação ( $p=0,04$  e  $p=0,02$ , respectivamente) quanto nas não

gestantes ( $p=0,007$  e  $p=0,008$ ); apesar disso, o fator gestação nestas mulheres infectadas parece diminuir consideravelmente os níveis de CAT ( $p=0,004$ ). Neste mesmo modelo, a carbonilação no pré-parto foi mais evidente nas grávidas HIV- ( $p=0,01$ ), do que nas HIV+, sendo que o inverso ocorre quando o fator gestação é excluído ( $p=0,01$ ). Em relação à translocação microbiana, pelos modelos longitudinal e fatorial, níveis de iFABP foram maiores nas gestantes infectadas [(M0  $p=0,001$ ; M1  $p=0,009$ ; M2  $p<0,0001$  longitudinal) e (M0  $p=0,03$ , M1  $p=0,01$  e M2  $p=0,007$  fatorial)]. As dosagens de LPS foram maiores em gestantes HIV+, do que nas gestantes HIV- (M0  $p=0,0005$ , M1  $p=0,0008$  e M2  $p=0,0001$ ), o que foi ainda mais expressivo no pós-parto, considerando ambos os modelos [(M2  $p=0,0007$  longitudinal) e (M2  $p=0,004$  fatorial)]. Quanto ao sCD14, o modelo longitudinal mostrou maiores dosagens no início da gestação (M0  $p=0,02$ ), enquanto o modelo fatorial não mostrou diferença entre as HIV- mas, considerando só as HIV+, esses níveis foram maiores em não gestantes (M0  $p<0,0001$ , M1  $p<0,0001$  e M2  $p<0,0001$ ). Para o EndoCAB das gestantes, as HIV+ apresentaram maiores IgA [( $p=0,001$  longitudinal) e ( $p=0,02$  fatorial)] e IgM [( $p=0,02$  longitudinal) e ( $p=0,03$  fatorial)] nos primeiros trimestres gestacionais. Enquanto as HIV- não gestantes apresentaram maiores níveis de IgA ( $p=0,02$  fatorial), as HIV+ apresentaram os valores mais altos de IgM no pós-parto, em relação às não infectadas ( $p=0,05$ ). **Conclusão:** Maior estresse oxidativo pode ocorrer em gestantes infectadas pelo HIV, porém, o vírus não é o único responsável por este processo, no qual parece haver envolvimento de outros mecanismos relacionados à gestação. A infecção promoveu maior translocação microbiana e ativação imune em infectadas pelo HIV, e a gestação por sua vez, diminuiu este último nestas mulheres, como visto pelo LPS, sCD14, IgM e IgA.

**Palavras-chave:** HIVaids, gestantes, estresse oxidativo, translocação microbiana, ativação imune.

## Abstract

**Introduction:** Redox state, microbial translocation and immune activation are poorly studied processes in HIV-infected pregnant women. These themes have extreme relevance, after all, may compromise the homeostasis of physiological processes indispensable for intrauterine development and gestational evolution, or contribute to the acquisition of comorbidities associated or not with AIDS in these women. **Objective:** To evaluate microbial translocation, immune activation and redox status during pregnancy and postpartum of HIV-infected women. **Methodology:** The 39 women included belonged to the following groups: 13 HIV+ pregnant women, 10 HIV-pregnant women, 10 non-pregnant HIV- and, six non-pregnant HIV+ women. Clinical and sociodemographic data were collected from the analysis of medical records and interviews. Blood was collected in a single moment for non-pregnant women, and in three moments for pregnant women, being: first or second trimesters (M0), prepartum (M1) and postpartum (M2). The following parameters of oxidative stress and microbial translocation were analyzed, respectively: peroxide dismutase activity (SOD), catalase (CAT), protein carbonylation, intestinal fatty acid binding protein (iFABP), lipopolysaccharide (LPS), soluble differentiation cluster 14 (sCD14) and endotoxin core antibodies (EndoCAb, IgG, IgA and IgM). The statistical analysis was based on two models, a factorial, considering two classification factors (pregnancy and infection), and one longitudinal for the groups, combining pregnancy and infection. The results were analyzed by ANOVA followed by Tukey and Gamma distribution followed by Wald, considering significance level of 5%. **Results:** The mean general age was 31.5 ( $\pm 7.18$ ) years. For infected pregnant women, CD4+ T lymphocyte counts were mostly above 500 cells/mm<sup>3</sup>, while 54.0% of these women had CV above the detection limit at the time of inclusion in the study. In the evaluation of the redox state by the longitudinal model, pregnant women (HIV+ and HIV-) did not present alterations in SOD activity, however, CAT activity was increased in the postpartum of the infected ( $p=0.03$ ) and in the pre- and postpartum of the non-infected ( $p=0.0004$  and  $p=0.001$ ). The increase in carbonylation occurred only in the prepartum of non-infected pregnant women ( $p=0.01$ ). By the factorial model, higher activities of SOD and CAT were observed in HIV+, both in women who were in the initial months of pregnancy ( $p=0.04$  and  $p=0.02$ , respectively) and in non-pregnant women ( $p=0.007$  and  $p=0.008$ ); despite this, the pregnancy factor in these infected women seems to considerably decrease CAT levels ( $p=0.004$ ). In this same model, carbonylation in prepartum was more evident in pregnant HIV- ( $p=0.01$ ), than in HIV+, and the reverse occurs when the pregnancy factor is excluded ( $p=0.01$ ). Regarding microbial translocation, longitudinal and factorial models, iFABP levels were higher in infected pregnant women [(M0  $p=0.001$ ; M1  $p=0.009$ ; M2  $p<0.0001$  longitudinal) and (M0  $p=0.03$ , M1  $p=0.01$  and M2  $p=0.007$  factorial)]. LPS dosages were higher in HIV+ pregnant women, than in HIV-pregnant women ( M0  $p=0.0005$ , M1  $p=0.0008$  and M2  $p=0.0001$ ), which was

even more expressive in the postpartum period, considering both models [(M2  $p=0.0007$  longitudinal) and (M2  $p=0.004$  factorial)]. Regarding sCD14, the longitudinal model showed higher dosages at the beginning of pregnancy (M0  $p=0.02$ ), while the factorial model showed no difference between HIV- but, considering only HIV+, these levels were higher in non-pregnant women (M0  $p<0.0001$ . M1  $p<0.0001$  and M2  $p<0.0001$ ). For the EndoCAb of pregnant women, HIV+ presented higher IgA [( $p=0.001$  longitudinal) and ( $p=0.02$  factorial)] and IgM [( $p=0.02$  longitudinal) and ( $p=0.03$  factorial)] in the first gestational trimesters. While hiv-non-pregnant women had higher levels of IgA ( $p=0.02$  factorial), HIV+ presented the highest values of IgM in the postpartum period, in relation to non-infected patients ( $p=0.05$ ). **Conclusion:** Increased oxidative stress can occur in HIV-infected pregnant women, however, the virus is not solely responsible for this process, in which there seems to be involvement of other mechanisms related to pregnancy. The infection promoted greater microbial translocation and immune activation in HIV-infected, and pregnancy in turn decreased the latter in these women, as seen by LPS, sCD14, IgM and IgA.

**Keywords:** HIVaids, pregnant women, oxidative stress, microbial translocation, immune activation.

## SUMÁRIO

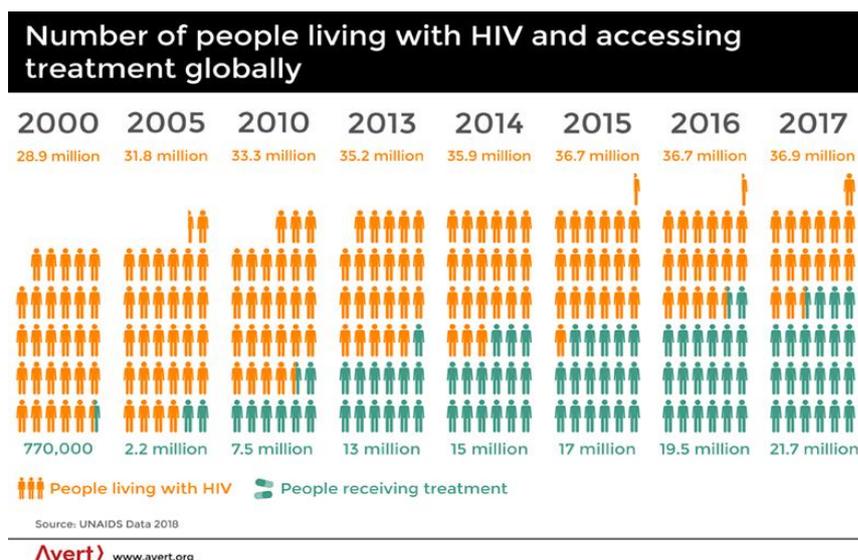
<b>1. Revisão Bibliográfica .....</b>	<b>01</b>
1.1 Aspectos gerais da infecção pelo HIV/aids .....	01
1.2 Translocação microbiana e inflamação em PVHA.....	07
1.3 Gestação: citocinas, hormônios e translocação microbiana .....	12
1.4 Estresse oxidativo na infecção pelo HIV e na gestação.....	16
<b>2. Hipótese.....</b>	<b>20</b>
<b>3. Objetivos .....</b>	<b>21</b>
3.1 Objetivo Geral.....	21
3.2 Objetivos Específicos .....	21
<b>4. Metodologia .....</b>	<b>22</b>
4.1 Casuística.....	22
4.2 Métodos.....	22
4.2.1 Critérios de inclusão e exclusão .....	23
4.2.2 Delineamento do estudo.....	23
4.2.3 Coleta de dados.....	24
4.2.4 Realização dos exames laboratoriais.....	25
4.2.5 Análise estatística dos resultados.....	27
<b>5. Resultados .....</b>	<b>29</b>
5.1 Caracterização da população estudada.....	30
<b>5.2 Resultados do modelo longitudinal.....</b>	<b>31</b>
5.2.1 Estresse oxidativo.....	31
5.2.2 Translocação microbiana, resposta imune celular e humoral.....	33
<b>5.3 Resultados do modelo fatorial.....</b>	<b>36</b>
5.3.1 Estresse oxidativo.....	36
5.3.2 Translocação microbiana, resposta imune celular e humoral.....	37
<b>6. Discussão.....</b>	<b>42</b>
<b>7. Conclusões.....</b>	<b>50</b>
<b>8. Referências bibliográficas.....</b>	<b>51</b>
<b>9. Anexos.....</b>	<b>61</b>
<b>10. 1 Apêndice.....</b>	<b>63</b>
<b>10. 2 Apêndice- artigo submetido .....</b>	<b>64</b>

## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. Aspectos gerais da infecção pelo HIV/aids

Mais de 30 anos após a descrição dos primeiros casos, o cenário da epidemia mudou e a infecção pelo HIV/aids tornou-se uma doença crônica devido principalmente à eficácia de seu tratamento, que aumenta a sobrevivência e melhora a qualidade de vida dos indivíduos infectados. No entanto, ela ainda é um grande problema de saúde pública em função do seu caráter pandêmico e de sua gravidade.

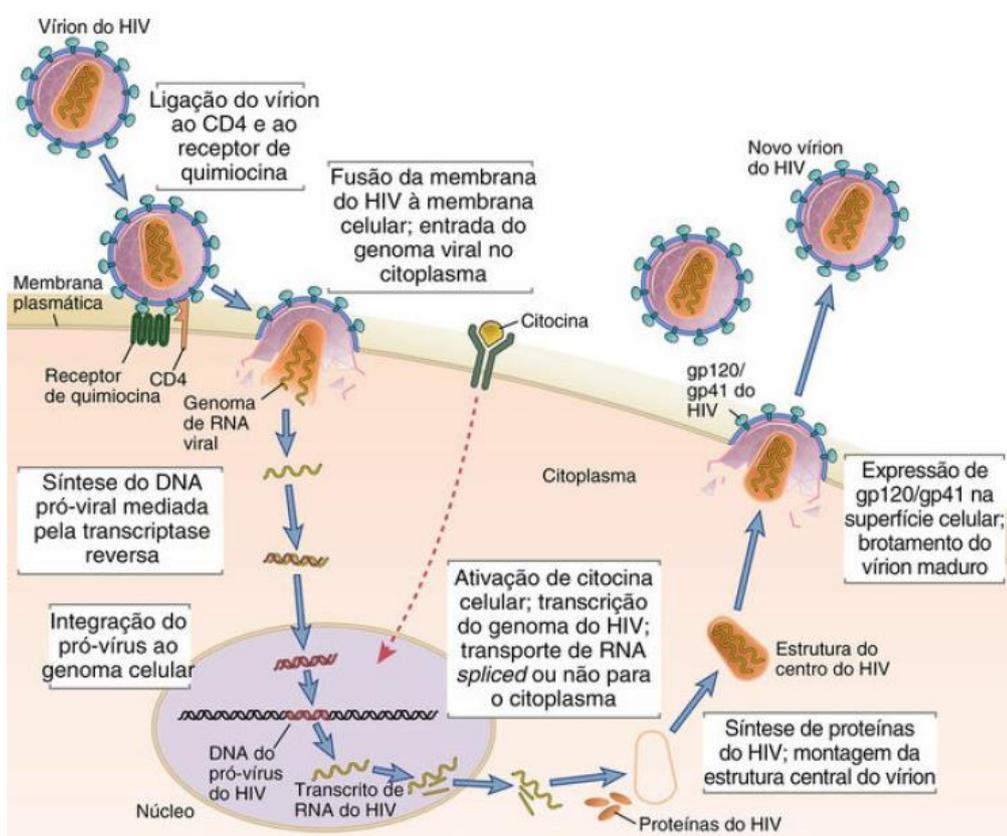
Aproximadamente 36.900.000 pessoas vivem com HIV/aids no mundo (Figura 1)<sup>1</sup>, sendo 982.129 casos no Brasil, notificados desde 1980 até junho de 2019<sup>2</sup>. De acordo com o AIDST Boletim Epidemiológico do Estado de São Paulo, foram notificados 260.396 casos até 2017, dos quais 1.831 pertenciam aos municípios que constituem o Grupo de Vigilância Epidemiológica da microrregião de Botucatu, do Departamento Regional de Saúde VI (DRS-VI)<sup>3</sup>. Com relação ao gênero feminino, neste mesmo período foram identificados 77.812 casos no país e, em um período de dez anos houve um aumento de 21,7% na taxa de detecção de HIV em gestantes<sup>2</sup>.



**Figura 1. Pessoas vivendo com HIV no mundo**

Fonte: Avert, 2018<sup>4</sup>

A infecção pelo HIV, como demonstrada na Figura 2, ocorre, inicialmente, pela ligação e fusão do vírus com receptores CD4 da célula alvo e seus correceptores CCR5 e/ou CXCR4<sup>4</sup>. Após alterações conformacionais glicoproteicas, há liberação do material genético do *core* proteico do HIV no citoplasma celular. Dá-se início às etapas de transcrição do ácido ribonucleico (RNA) viral em ácido desoxirribonucleico (DNA) pela enzima transcriptase reversa e, após, duplicação do DNA viral, que será inserido posteriormente no genoma do hospedeiro com auxílio de outra enzima viral, a integrase<sup>5-8</sup>. Há, então, a transcrição e tradução das proteínas virais e, então, a enzima protease atua, iniciando o processo de montagem e liberação dos *virions* da célula que ocorre por brotamento, sendo que parte da membrana plasmática do hospedeiro dará origem à cápsula viral<sup>9-11</sup>. A partícula imatura é liberada e, finalmente, ocorre o processo de maturação, fase em que se formam os vírus. Por fim, além dos vários efeitos citopáticos virais, sua taxa de replicação pode alcançar níveis tão altos, que levam à morte da célula<sup>12-15</sup>.



**Figura 2. Ciclo e replicação do HIV**

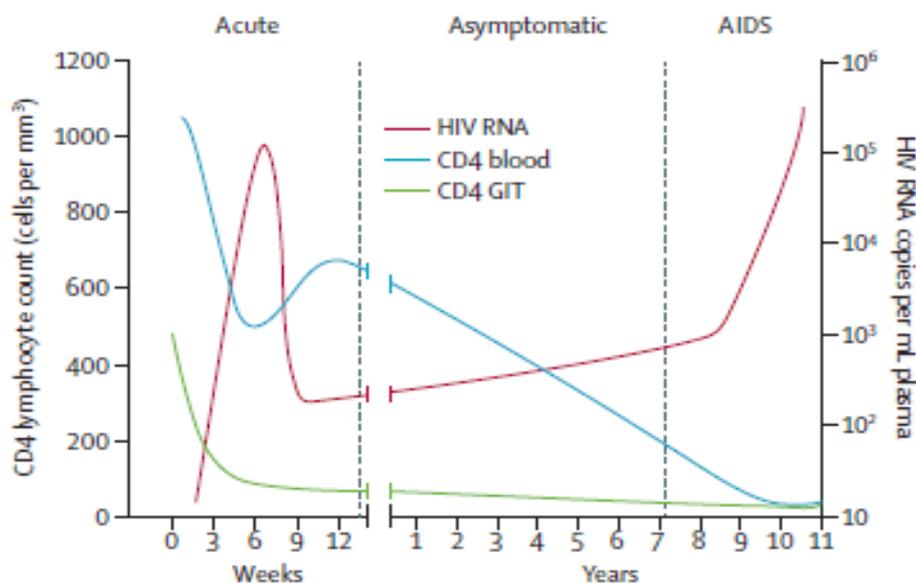
Fonte: Abbas, 2015<sup>16</sup>

Assim, o principal dano causado pelo HIV é o acometimento progressivo do sistema imunológico, levando à sua grave depressão, o que torna o indivíduo mais suscetível às doenças oportunistas ou certos tipos de neoplasias<sup>17</sup>. Várias são as células alvo do HIV, tais como, linfócitos, macrófagos, monócitos, células dendríticas, entre outras<sup>18</sup>.

Após o contágio pelo HIV, a infecção se caracteriza por três fases clínicas (Figura 3). Na fase aguda pode ocorrer febre, astenia, cefaleia, mialgia, adenopatia, faringite e *rash* cutâneo, que são reflexos do estado intenso de replicação viral e do maior pico de viremia<sup>19-21</sup>. Nesse período, também ocorre semeadura do vírus nos tecidos linfoides<sup>22</sup>. No sangue periférico há redução intensa nas contagens de células T CD4+ devido à alta viremia. Na sequência, há queda da carga viral (CV) e verifica-se recuperação lenta e parcial das contagens dos linfócitos T CD4+, enquanto que o número de T CD8+ na circulação retorna em níveis semelhantes aos anteriores à infecção. A soroconversão ocorre, então, entre três e cinco semanas após o contágio, sendo que este período anterior é denominado “janela imunológica”<sup>23,24</sup>.

Durante a fase crônica, também chamada de assintomática ou “latência clínica”, apesar da ausência de sinais e sintomas há replicação viral persistente, além de depleção intensa de células T CD4+, principalmente, no tecido linfóide associado à mucosa intestinal ou GALT (*gut-associated lymphoid tissue*) e nos gânglios linfáticos, acometendo as estruturas e funções destes tecidos, o que dificulta o desenvolvimento de resposta imunológica competente<sup>22</sup>.

A fase sintomática ou aids é marcada por depleção progressiva dos linfócitos T CD4+, que ocorre devido ao aumento da apoptose de linfócitos infectados e não infectados pelo HIV, o que acomete também, a produção e/ou ativação de citocinas pró e anti-inflamatórias, refletindo na maior replicação viral e grave imunossupressão, momento em que surgem as infecções oportunistas ou neoplasias definidoras de aids<sup>25,26</sup>.



**Figura 3. Patogênese do HIV**

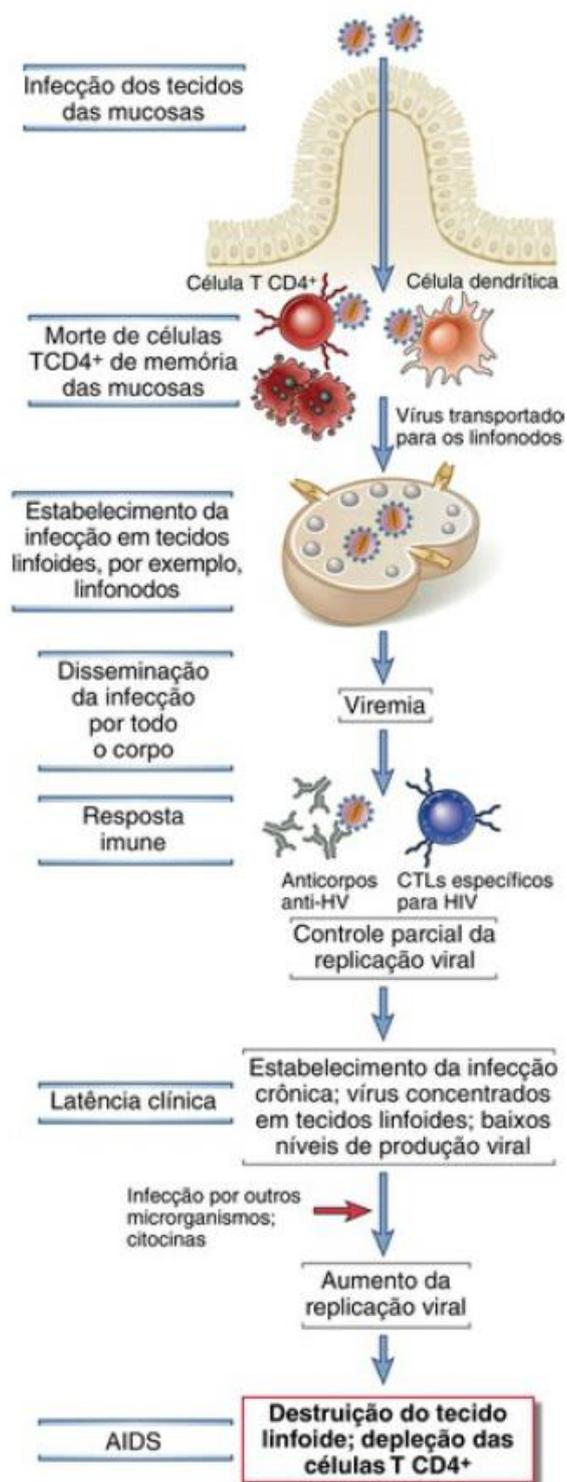
CD4 GIT: células T CD4+ presente no GALT

Fonte: Maartens, 2014<sup>27</sup>.

A infecção pelo HIV também se caracteriza por aumento acentuado da ativação imune, que inclui tanto a resposta inata quanto a adaptativa. Os linfócitos T CD4+ são essenciais para a ativação de macrófagos e geração de linfócitos T citotóxicos (CTL). Uma das características principais do controle da replicação do HIV é a presença de células T CD8+ específicas com elevada capacidade proliferativa sendo que, a inibição da replicação mediada por CTL pode ocorrer por meio de vários mecanismos relacionados, tanto com sua capacidade citolítica, quanto com a produção de moléculas não citotóxicas com atividade antiviral (Figura 4)<sup>25-28</sup>.

Além da imunidade celular, a resposta humoral também desempenha importante papel no controle da replicação viral, devido à produção de anticorpos neutralizantes e não neutralizantes que levam à opsonização viral e, pela interação destes com o sistema complemento<sup>26-30</sup>.

No entanto, a partir da descoberta das diversas drogas antirretrovirais, o controle da replicação do HIV tem mudado o cenário da epidemia. Desde a introdução da zidovudina para uso clínico ainda no final da década de 1980, vários são os esquemas e recomendações que ao longo do tempo vêm sendo modificados<sup>31,32</sup>.



**Figura 4. Progressão na infecção pelo HIV**

Fonte: Abbas, 2015<sup>16</sup>.

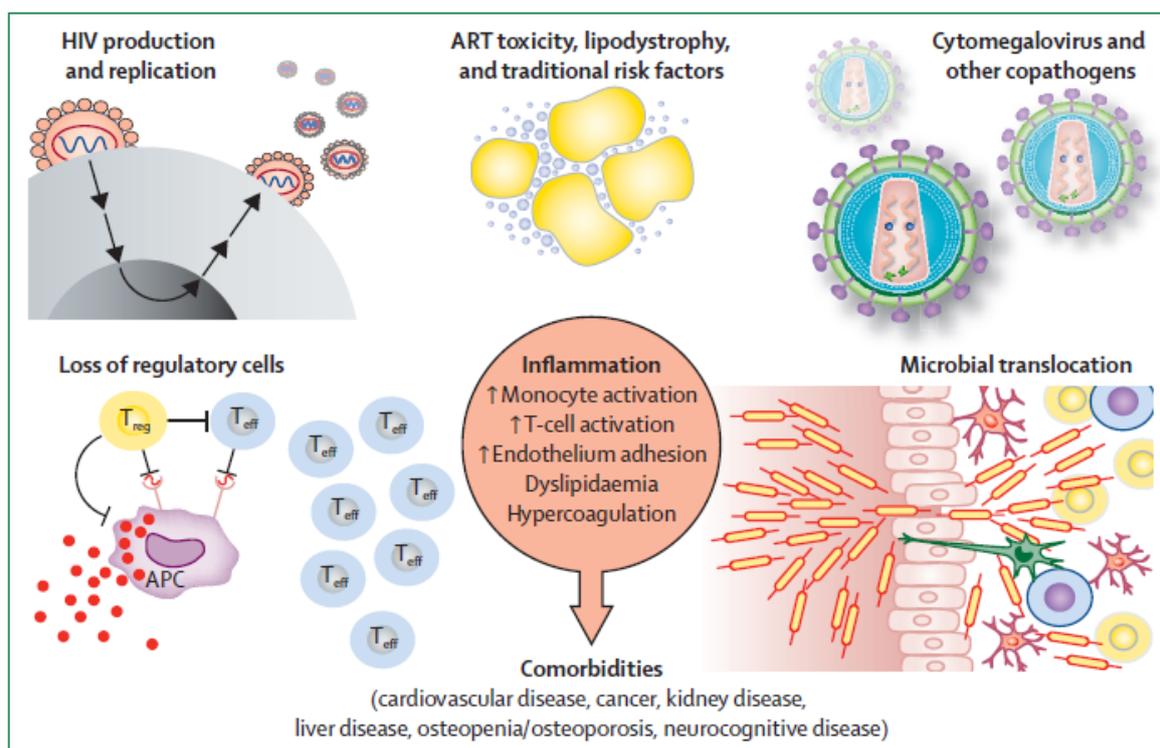
A partir de 2013, a Organização Mundial de Saúde (OMS), divulgou novas diretrizes para início da terapia antirretroviral (TARV) visando, em seu uso precoce, a prevenção da transmissão do vírus, além dos benefícios individuais das pessoas que vivem com HIV/aids (PVHA). Hoje, a maioria dos

*guidelines* recomenda o tratamento para todos os portadores do vírus, independentemente dos níveis de linfócitos T CD4+, o que deve ser feito a partir de seu diagnóstico<sup>30</sup>.

A TARV, portanto, melhora progressivamente a resposta imunológica e prolonga a expectativa de vida do infectado, além de reduzir substancialmente o risco de transmissão do HIV<sup>27</sup>. Apesar das vantagens em longo prazo, a intervenção de modo precoce não tem demonstrado apenas substanciais benefícios clínicos e, nesse contexto, novos desafios se fazem presentes<sup>33</sup>. Analisando a causa dos óbitos das PVHA atualmente, verifica-se que, diferentemente da era pré-TARV, as infecções oportunistas constituem apenas uma parcela, destacando-se agora doenças típicas do envelhecimento, tais como, doença isquêmica cardíaca, acidente vascular encefálico e outras alterações do sistema nervoso central, dislipidemias, hepatopatias, doença renal crônica, diabetes *mellitus*, alterações ósseas, cânceres não relacionados à aids, entre outras<sup>34,35</sup>.

Tais doenças crônicas, muito comuns em idosos da população geral, não somente acontecem mais cedo nas PVHA, mas também em maior número e algumas de forma concomitante<sup>36</sup>. Assim, uma PVHA na quarta década de vida tem o mesmo número de comorbidades que um indivíduo com mais de 60 anos na população geral<sup>36,37</sup>.

O primeiro componente que pode explicar a fisiopatologia do fenômeno “envelhecimento precoce” é o persistente processo inflamatório presente nas PVHA, desencadeado pela constante replicação do HIV, mesmo aquela residual, ou seja, quando a CV está abaixo do limite de detecção pelos testes utilizados na rotina. Outros patógenos, principalmente coinfeções pelo citomegalovírus, vírus das hepatites B (VHB) e C (VHC), além da translocação microbiana, também contribuem para o estímulo dessa ativação inflamatória persistente, que serve de “gatilho” para o desenvolvimento e agravamento da aterosclerose e da fibrose hepática, por exemplo (Figura 5)<sup>38</sup>.



**Figura 5. Causas e consequências da inflamação associada ao HIV**

Fonte: Deeks, 2008<sup>38</sup>.

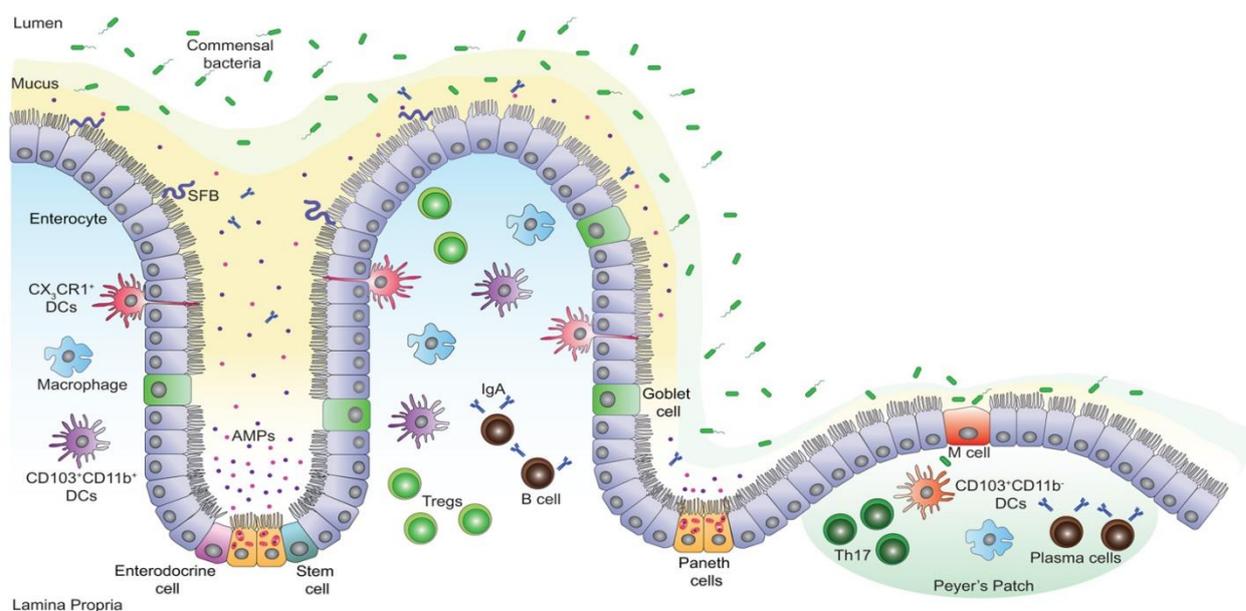
## 1.2. Translocação microbiana e inflamação em PVHA

A microbiota intestinal é composta aproximadamente de 1000 microrganismos, dos quais muitos ainda não foram descritos. Esta colonização é fundamental para diversos processos fisiológicos, como a construção da barreira epitelial intestinal, que promove seu desenvolvimento e aquisição de nutrientes, capacitação do sistema imune e defesa contra enteropatógenos<sup>39,40</sup>.

Embora a microbiota produza metabólitos e estímulos imunológicos benéficos para o hospedeiro, a disbiose pode apresentar forte impacto para o indivíduo<sup>39</sup>. As consequências decorrentes da alteração da microbiota intestinal têm sido estudadas em doenças crônicas como diabetes *mellitus* tipo 2, obesidade, asma e infecção pelo HIV<sup>41-44</sup>, porém, o desenvolvimento de alternativas profiláticas e remediadoras que atenuem seu impacto permanece um grande desafio para a comunidade científica.

O epitélio intestinal é constituído de células que participam na imunidade inata contra bactérias comensais e patogênicas, vírus e fungos. A principal linhagem de células que compõe o epitélio são os enterócitos. Abundante no intestino delgado e grosso, os enterócitos são responsáveis pela integridade epitelial, pela produção de proteínas antimicrobianas e favorecem a transição da imunoglobulina (Ig) A para o lúmen intestinal<sup>45</sup>. Em menor quantidade estão as *Goblet Cells*, que sintetizam o muco epitelial e são responsáveis por combater a invasão bacteriana<sup>46</sup>; *Paneth Cells*, especializadas na produção de  $\alpha$ -defensinas<sup>47</sup>; *Enteroendocrine Cells*, reguladoras da digestão e motilidade celular<sup>48</sup> e *M Cells* ou *Microfold Cells*, transportadoras de antígenos luminiais para as células apresentadoras de antígeno na lâmina própria<sup>49</sup>. Esses e outros fatores estruturais e imunológicos do hospedeiro previnem produtos microbianos de atravessarem do lúmen intestinal para o sangue periférico (Figura 6).

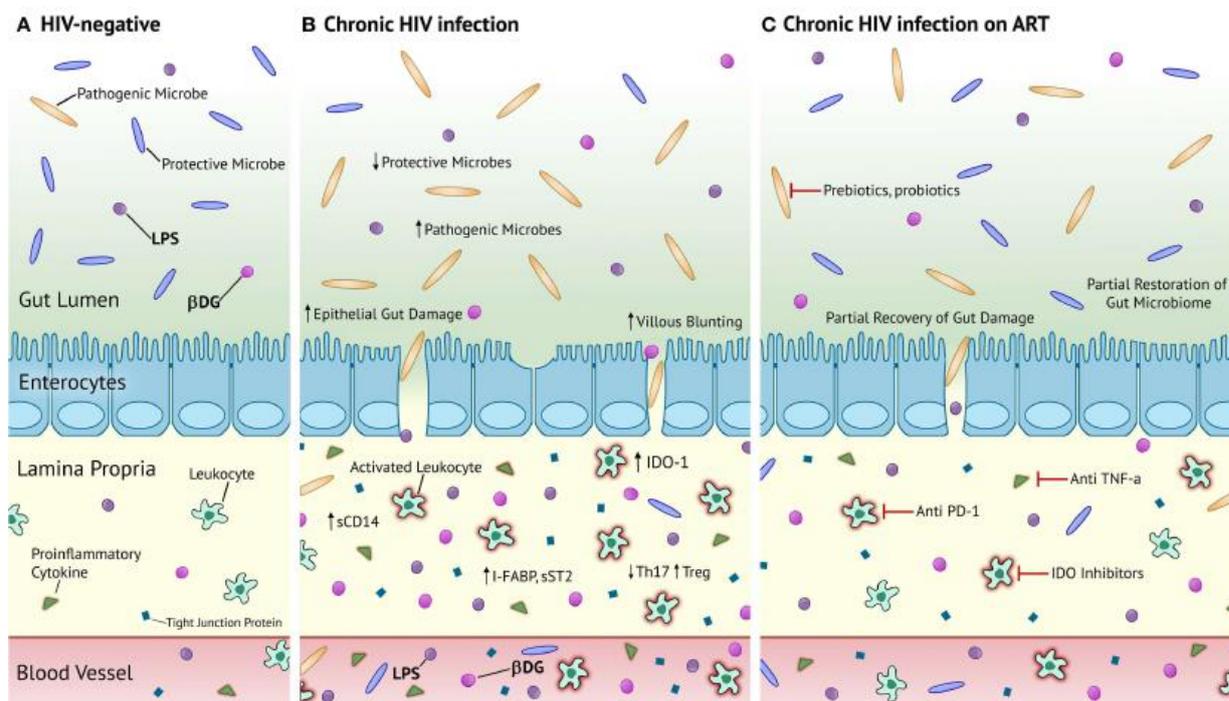
O GALT abriga a maioria dos linfócitos em comparação ao sangue periférico, característica que o torna extremamente permeável à infecção e replicação do HIV<sup>23</sup>. A intensa viremia e depleção de linfócitos TCD4+ no GALT danificam respostas imunológicas de células epiteliais, causando morte progressiva de enterócitos e consequente perda da integridade epitelial, o que permite a translocação de produtos microbianos para a corrente sanguínea<sup>45</sup>.



**Figura 6. Epitélio intestinal normal**

Fonte: Muniz, 2012<sup>50</sup>.

A translocação microbiana está associada com a persistente ativação imune apresentada em PVHA, mesmo naquelas sob TARV<sup>13,51,52</sup>. Além disso, essa ativação pode ser reflexo da replicação viral residual em células latentes e outros reservatórios do organismo<sup>53</sup>. Estes processos levam a um estado de inflamação crônica sistêmica, o que contribui com a evolução mais rápida da própria infecção e de comorbidades não associadas à aids<sup>23,54,55</sup>. Quando essa translocação microbiana ocorre em indivíduos saudáveis, existem vários mecanismos imunológicos que são capazes de eliminar os microrganismos ou transportá-los de volta ao lúmen do intestino, tais como, a estrutura morfofisiológica da parede epitelial (Figura 6) e a presença de anticorpos do *core* da endotoxina (EndoCab), que são específicos para lipopolissacarídeo (LPS) e secretados por células B para fagocitar o antígeno e neutralizar sua atividade<sup>56,57</sup>. Entretanto, na infecção pelo HIV ocorre comprometimento de vários desses mecanismos protetores, como disfunção de células B com redução nos níveis de IgA e depleção intensa de linfócitos T CD4+ do GALT, fatores que causam danos na barreira intestinal e resultam na translocação microbiana, induzindo aumento na ativação imune sistêmica e inflamação crônica<sup>58</sup> (Figura 7).



**Figura 7. Epitélio intestinal em diferentes condições.**

(A) Tecido linfóide associado ao intestino (GALT) em indivíduo saudável; (B) dano epitelial e translocação microbiana; (C) introdução da TARV e translocação microbiana.

Fonte: Ramendra, 2019<sup>59</sup>.

Alguns estudos na infecção pelo HIV demonstraram que a translocação microbiana está diretamente relacionada com o risco de doenças cardiovasculares, pois foram observados altos níveis de LPS e de alguns outros biomarcadores, como D-dímero, molécula de adesão intercelular (ICAM)-1 e molécula de adesão celular vascular (VCAM)-1 em indivíduos sob TARV<sup>60-62</sup>. Níveis aumentados de LPS são encontrados também em PVHA coinfectadas com tuberculose, hepatites crônicas por vírus B e C, leishmaniose visceral, entre outras<sup>63-65</sup>. Embora a TARV diminua níveis de LPS circulantes, sabe-se que eles não são normalizados, mesmo depois de 70 semanas desse tratamento associado ao cotrimoxazol, antimicrobiano composto por sulfametoxazol e trimetopim<sup>66</sup>.

O LPS, um glicolipídio componente da parede celular de bactérias Gram-negativas, está envolvido na resposta imunológica de fase aguda para infecções bacterianas e tem sido considerado um importante marcador de translocação microbiana<sup>67,68</sup>. O LPS circulante desencadeia resposta dependente à sua concentração e envolve a proteína ligante de lipopolissacarídeo (LBP) de fase aguda, no qual é sintetizada principalmente no fígado mediante estímulos por LPS. O LPS capturado por LPB é complexado ao *cluster* de diferenciação 14 (CD14) que então interage com o *toll-like receptor 4* (TLR-4) das células e ativa o fator de transcrição NF- $\kappa$ B (fator nuclear *kappa* B), desencadeando produção intensa de citocinas pró-inflamatórias<sup>59,69</sup>. O CD14 pode ser expresso como proteína de membrana ligada ao glicofosfatidilinositol de monócitos, macrófagos e neutrófilos (exceto em células endoteliais) ou proteína solúvel (sCD14), com especificidade para LPS e outros componentes derivados da parede bacteriana<sup>16</sup>.

Elevados níveis de sCD14, fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e níveis séricos diminuídos de EndoCAb, foram observados em PVHA e relacionados à translocação microbiana<sup>53</sup>. Vesterbacka *et al* .<sup>66</sup> e Sandler *et al* .<sup>70</sup> observaram, além de LPS, níveis elevados de proteína de ligação de ácidos graxos intestinais (iFABP) que favoreciam a translocação microbiana. A iFABP compõe cerca de 3% do conjunto de proteínas FABP, presente no citoplasma dos enterócitos, cuja função não está totalmente descrita. Níveis aumentados de iFABP na circulação reflete intensa depleção de enterócitos, aumentando a permeabilidade intestinal e favorecendo a translocação

microbiana<sup>71</sup>. Kamari *et al* .<sup>72</sup> demonstraram que o aumento desta proteína associada à LPS em indivíduos virgens de tratamento e em uso crônico de TARV apresentaram papel fundamental na progressão da infecção pelo HIV.

A indoleamina-2,3-deoxigenase (IDO-1) é outro biomarcador que tem sido relacionado à translocação microbiana, ativação imune e progressão da doença do HIV<sup>73</sup>. A IDO-1 é expressa em todas as células mieloides e sua ativação ocorre após reconhecimento do LPS pelos padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs)<sup>73,74</sup>. Em PVHA a atividade da IDO-1 não é neutralizada pela introdução da TARV, que quando associada à LPS, houve aumento no dano epitelial intestinal, translocação microbiana, ativação imune e o tamanho do reservatório viral<sup>75-78</sup>.

Desse modo, o aumento dos níveis plasmáticos de LPS, sCD14, iFABP, IDO-1 e a diminuição de EndoCab estão associados com persistente ativação imune, o que leva ao estado de inflamação crônica e contribui com o aparecimento de algumas comorbidades relacionadas ou não ao HIV, como comentado anteriormente<sup>54,55,79-81</sup>.

Ademais, sabe-se que, além do desequilíbrio entre as células T *helper* (Th) 1 e 2 observado na infecção pelo HIV há, também, o comprometimento dos perfis Th17 e Th22, população de células secretoras de interleucina (IL) 1 $\beta$  e responsável pela homeostasia da barreira epitelial<sup>82</sup>. Predominante no trato gastrointestinal, as células Th17 contribuem para a defesa contra infecções bacterianas, fúngicas e parasitárias, além de estarem envolvidas na regeneração epitelial e no recrutamento de neutrófilos e células mieloides para o GALT. A depleção de células T no GALT, durante a infecção pelo HIV, leva ao esgotamento de células Th17, que causa perda da integridade da barreira intestinal, facilitando ainda mais a translocação de produtos microbianos<sup>76,82,83</sup>.

Cohen *et al* .<sup>84</sup> e Munoz-Fernandez *et al* .<sup>85</sup> apontam que níveis séricos de citocinas inflamatórias, tais como, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 estão elevados mesmo na fase assintomática da infecção pelo HIV e, ainda, Freudenberg *et al* .<sup>86</sup> mostraram que o LPS induz a secreção destas citocinas. Além de aumentar a permeabilidade intestinal no GALT, essas citocinas também contribuem para replicação

viral e muitas das manifestações de imunodeficiência, interferindo na função de várias células do sistema imune, o que leva ao comprometimento da capacidade regenerativa imunológica em nível da medula óssea, timo e gânglios linfáticos<sup>83,86-89</sup>. Sabe-se que a TARV diminui substancialmente a inflamação, no entanto, alguns autores<sup>9</sup>, demonstraram que mesmo após dois anos de tratamento, o processo inflamatório crônico não regride, indicando que a translocação microbiana contribui para ativação intensa de macrófagos e monócitos, independentemente da replicação viral.

Além de causar comorbidades que podem se associar ao HIV<sup>60-69</sup>, a translocação microbiana está envolvida na patogenia de várias outras doenças, como doença de Crohn<sup>90</sup>, e desta, com a participação das bactérias, *Listeria* sp, *Escherichia coli* e *Streptococcus* sp<sup>91</sup>. A translocação microbiana pode agravar o desenvolvimento do sistema de resposta inflamatória sistêmica, caracterizado pelo intenso dano às células endoteliais, aumento da permeabilidade tecidual, ativação da cascata de coagulação, agregação plaquetária e hipóxia tecidual<sup>92-95</sup>, aumentando o risco de sepse e síndrome de disfunção de múltiplos órgãos<sup>93</sup>. Ademais, altos níveis de endotoxemia têm sido observados em indivíduos submetidos à cirurgia gastrointestinal invasiva e na doença do enxerto contra hospedeiro, sugerindo que a manipulação intestinal também pode prejudicar a função de sua barreira<sup>68,96</sup>.

### **1.3. Gestação, citocinas, hormônios e translocação microbiana**

A gestação caracteriza-se por alterações fisiológicas, hormonais e imunológicas. Do ponto de vista imunológico, a manutenção da gestação depende do equilíbrio entre as citocinas, que caracterizam os perfis de resposta imune e se modificam ao longo de todo período gestacional<sup>97</sup>. No primeiro trimestre, há predomínio da resposta imune de perfil Th1, visto que o ambiente torna-se inflamatório, tanto para permitir o adequado reparo do epitélio uterino, que sofre alterações devido à implantação do feto, quanto para remoção de restos celulares. No segundo trimestre, o domínio passa a ser da resposta imune de perfil Th2<sup>98,99</sup>, com aumento de citocinas anti-inflamatórias, que é responsável pela

manutenção da gestação. No terceiro trimestre e no momento do parto, o perfil Th1 volta a ser predominante na circulação sistêmica, bem como no tecido placentário e no líquido amniótico<sup>100-102</sup>. No entanto, trabalhos recentes vêm sugerindo a participação de outros tipos celulares diferenciados a partir de Th0, em células produtoras de IL-17 (Th17), e em células CD4+CD25+, denominadas T regulatórias (Treg), na manutenção da homeostasia durante a gestação<sup>103,104</sup>. Durante o terceiro trimestre de gestação, níveis crescentes de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$  são secretados pelos tecidos placentários e viabilizam o parto<sup>105-109</sup>.

O período gestacional é caracterizado pelo aumento dos hormônios estrógeno e progesterona<sup>110</sup>. Durante a gestação, níveis elevados de progesterona mantêm a quiescência uterina através de sua ação em receptores de progesterona. A ativação destes leva ao bloqueio de receptores estrogênicos presentes no miométrio. Dados recentes ainda sugerem possível ação indireta da progesterona no útero e na cérvix, inibindo a resposta inflamatória pelo bloqueio de NF- $\kappa$ B<sup>111</sup>. O nível plasmático de progesterona sofre drástica redução funcional próximo ao término da gestação, quando citocinas inflamatórias apresentam-se em níveis elevados e podem bloquear sua ação, aumentando a produção do estrogênio<sup>112</sup>.

O estrogênio é mediado por receptores (ER $\alpha$  e ER $\beta$ ) expressos em diversas células imunológicas, epiteliais e musculares<sup>113,114</sup>. Seus níveis normais contribuem para proteção da mucosa vaginal combatendo infecções bacterianas e virais, pela capacidade de manter a espessura e integridade desse epitélio, aumentar a produção do muco cervical e manter o pH da flora bacteriana<sup>115</sup>. Dependendo dos seus níveis, o estrogênio pode exercer tanto função anti-inflamatória quanto inflamatória. Hel *et al*<sup>116</sup>, em revisão sistemática, demonstraram que quando disponibilizados como contraceptivo para mulheres com HIV, níveis diminuídos de estrogênio induziram produção de TNF- $\alpha$ , IL-6, e IL-1 $\beta$ , além de aumentar a migração de leucócitos para o sítio de inflamação. Quando seus níveis estavam aumentados, o estrogênio inibiu a resposta mediada por células e induziu a produção de citocinas do perfil Th2, como IL-4, IL-10 e TGF- $\beta$ , provocando resposta anti-inflamatória.

Apesar da capacidade protetora do estrogênio, acredita-se que, em formulações tópicas ou contraceptivas, tenham relação direta com a replicação do HIV, estimulando-o através do receptor ER $\alpha$ , o que aumenta a CV e as células T infectadas<sup>110,117</sup>. Neste sentido, Katagiri *et al* .<sup>118</sup> sugeriram que 17 $\beta$ - estradiol (E2), o principal estrogênio encontrado nas mulheres, quando ligado ao receptor ER $\alpha$ , o E2 aumenta a atividade do fator de transcrição Sp1 ligado ao DNA celular e, indiretamente, ativa a replicação do HIV *in vitro*. No entanto, Rodriguez-Garcia *et al* .<sup>119</sup> demonstraram efeito oposto de E2, quando administrado antes e pós-infecção *in vitro* pelo HIV. Foi observado pelos autores diminuição da susceptibilidade ao HIV, inferido pelo tratamento de E2 na pré-infecção e redução da fusão viral através dos seus correceptores em macrófagos e células T.

A progesterona, por sua vez, quando estudada como método contraceptivo em mulheres infectadas pelo HIV, demonstrou diferença em relação ao estrogênio. Além de provocar resposta do perfil Th2, com conseqüente diminuição das atividades de células T CD4+ e T CD8+ (citotóxicas), a progesterona pode levar ao aumento incontrolado de células T CD4+ infectadas e, com isso, à progressão da doença<sup>110,120,121</sup>. Nesse sentido, Enomoto *et al* .<sup>122</sup> mostraram que a progesterona diminui a expressão CD69, marcador de ativação de células T CD8+, afetando sua capacidade de matar as células T CD4+ infectadas e, Ragupathy *et al* .<sup>123</sup> demonstraram *in vitro* que o tratamento com progesterona aumenta tanto a replicação do HIV quanto do herpes simples tipo-2, em caso de coinfeção.

Os hormônios sexuais também contribuem para manutenção funcional da barreira de mucosas em ambos os sexos. No entanto, mulheres na idade reprodutiva exibem forte resposta imune humoral e celular, quando comparadas ao período pós-menopausa e ao período produtivo do sexo masculino<sup>124</sup>. Em relação à translocação microbiana e hormônios femininos, pouco se conhece o envolvimento desta associação e suas conseqüências na infecção pelo HIV. Zhoua *et al* .<sup>125</sup> acreditam que a progesterona pode regular a permeabilidade intestinal, pois observaram correlação inversa com níveis de LPS em gestantes infectadas pelo HIV. No entanto, o estrogênio e o hormônio gonadotrofina coriônica humana (hCG) parecem apresentar efeito positivo na permeabilidade intestinal e favorecer a translocação

microbiana, como demonstrado por Herr *et al* .<sup>126</sup>, Kuruca *et al* .<sup>127</sup> e Zhou *et al* .<sup>128</sup>. Embora a translocação microbiana seja responsável pela intensa ativação imune e, ainda que, estudos tenham demonstrado respostas celular e humoral de estrógeno e progesterona, os resultados apresentam-se controversos<sup>116-128</sup>.

Em relação à translocação microbiana, poucos trabalhos avaliaram sua influência na gestação e, e especialmente, em grávidas infectadas pelo HIV. Em recente publicação<sup>129</sup> foi demonstrado aumento nos níveis de sCD14 em gestantes e não gestantes infectadas pelo HIV, o que poderia sugerir perfil protetor nestas mulheres, justificado pelas alterações imunológicas decorrentes do segundo trimestre da gestação<sup>107,130</sup>. López *et al* .<sup>131</sup> também relataram aumento nos níveis de sCD14 e LPS em grávidas infectadas pelo HIV, inclusive, mostraram que o aumento de sCD14 poderia estar relacionado às causas de parto prematuro, apesar de não ter havido complicações para os recém-nascidos. Este aspecto foi observado, também, por outros estudos<sup>132,133</sup>, que evidenciaram aumento de LBP e sCD14 no líquido amniótico de mulheres em trabalho de parto prematuro. Shivakoti *et al* .<sup>134</sup> embora não tenham avaliado o LPS, demonstraram que aumentos de sCD14, iFABP e marcadores inflamatórios poderiam ser preditores de parto prematuro.

Kourtis *et al* .<sup>135</sup>, em estudo com filhos infectados e não infectados pelo HIV, de mães portadoras do vírus, avaliaram a amamentação e o papel da translocação microbiana na aquisição do HIV e observaram níveis aumentados de LPS e sCD14 somente nas crianças infectadas. Entre os marcadores avaliados, o sCD14 foi o preditor de aquisição do HIV via amamentação, podendo sugerir que a permeabilidade intestinal da criança possa favorecer a infecção. Neste mesmo estudo, maior translocação esteve relacionada à sua profilaxia com antibióticos e ao desmame, que poderiam alterar sua microbiota e homeostase intestinais. Isto levou ao menor crescimento da criança nos meses analisados, o que reforçou a necessidade de outras intervenções durante a amamentação, além do uso da TARV, tais como, uso de probióticos, vacina contra rotavírus, entre outras precauções que pudessem estabilizar tal desequilíbrio.

Está bem estabelecido que a gravidez não acelera a progressão da doença do HIV ou aumenta o risco de mortalidade, porém, apresenta relação com a transmissão perinatal do vírus<sup>136-138</sup>. Em estudo de metanálise observou-se que, entre as mulheres infectadas pelo HIV, as gestantes foram as mais conscientes em relação à adesão à terapia e acompanhamento clínico, o que reflete em bom prognóstico, tanto da gravidez quanto da própria infecção<sup>136</sup>. No entanto, a gestação, por si só, caracteriza-se por diversas alterações e está associada com aumento de alguns marcadores inflamatórios, como descrito anteriormente.

Embora venham sendo estudadas inúmeras estratégias com a finalidade de prevenir o dano da barreira epitelial intestinal causada pela depleção das células T CD4+ são escassos os ensaios clínicos que indicam administração de antibióticos, drogas anti-inflamatórias ou suplementação simbiótico-probiótico associadas à TARV, na intenção de prevenir a translocação microbiana.

#### **1.4. Estresse oxidativo na infecção pelo HIV e na gestação**

O estresse oxidativo é conceituado pelo desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes, originando a desregulação da sinalização e controle redox (redução-oxidação), levando a possíveis danos moleculares<sup>139</sup>. Como consequências do desequilíbrio redox, ocorrem danos estruturais e funcionais em lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos e outras macromoléculas, cuja extensão e gravidade dependem da natureza e intensidade do estímulo, variando entre diferentes tecidos e espécies animais<sup>140,141</sup>.

Os marcadores de estresse oxidativo desempenham importante papel na origem de processos metabólicos que deflagram em enfermidades crônico-degenerativas. Tal capacidade torna-os ferramentas indispensáveis na elucidação de mecanismos e implicações biológicas do dano oxidativo, com o objetivo de possibilitar o planejamento de ações eficazes no controle e prevenção desses processos<sup>142,143</sup>. O dano oxidativo é detectável sob condições fisiológicas normais em indivíduos

saudáveis, o que sugere que a eficácia dos mecanismos antioxidantes e de reparo não podem evitar completamente a reação de oxidação mediada pelas espécies reativas de oxigênio (EROs)<sup>139</sup>.

O desequilíbrio *redox* de humanos pode ser intensificado pela infecção pelo HIV e, inclusive, a TARV pode influenciar ainda mais neste processo, sendo que este estado persistente tem impacto no sistema imunológico, *status* clínico e nutricional dos pacientes<sup>143-145</sup>.

Considera-se que o processo inflamatório, intensificado pela replicação do HIV, apresentam efeitos pró-oxidantes<sup>146</sup>. Para combater os danos oxidativos, há elevado consumo de moléculas antioxidantes que, em parte, explica a deficiência nos sistemas antioxidantes<sup>143</sup>. Outras explicações baseiam-se na falta de ingestão de antioxidantes que pode levar à deficiência de glutathione dentre outros, na evolução da infecção pelo HIV<sup>143</sup>. Foram relatadas na literatura, atividades alteradas de capacidade antioxidante total e concentrações reduzidas, tanto das enzimas superóxido dismutase (SOD), CAT (CAT) e da glutathione, quanto de vitaminas antioxidantes séricas (A, C e E) e alguns micronutrientes, como zinco, ferro e cobre<sup>143,147-149</sup>.

O dano induzido pelo estresse oxidativo pode ser o primeiro passo para reativação do vírus latente, pois proteínas virais, como *gp120*, *tat*, *nef*, *vpr* e transcriptase reversa induzem a produção intracelular de EROs que, por sua vez, ativa o NF-κB, aumentando a transcrição do HIV<sup>116,150,151</sup>. Esse desequilíbrio leva a aumento ainda maior da peroxidação lipídica, proteínas oxidadas conhecidas como carbonilação, alterações sequências do DNA e ao acometimento estrutural e funcional das organelas e enzimas, o que acelera ainda mais a progressão para aids<sup>143,149,152</sup>.

A TARV apesar de melhorar significativamente os parâmetros clínicos, virais e imunológicos de PVHA também parece contribuir com o desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes. Estudos têm demonstrado que a TARV pode afetar a mitocôndria em parâmetros morfofisiológicos e aumentar as espécies reativas na circulação, devido à maior produção de metabólitos oxidados derivados da interação entre EROs e as células infectadas<sup>150,153</sup>. Inclusive, a elevação de marcadores de estresse oxidativo estão presentes em PVHA, como hidroperóxidos totais, EROs, espécies reativas

de nitrogênio e produtos da peroxidação lipídica, como os malondialdeídos (MDA)<sup>143</sup> e 8-isoprostano<sup>145</sup>. Segundo alguns autores, os níveis séricos aumentados de MDA, hidroxiperóxidos totais e oxidação intensificada de proteínas, bem como diminuição da glutathione foram observados em adultos infectadas pelo HIV, quando comparados antes e durante a TARV<sup>151,154</sup>. Outro estudo apontou, ainda, aumento de peroxidação lipídica e de dano genotóxico após seis meses de uso de TARV, além da diminuição na capacidade antioxidante total, bem como de vitaminas e carotenoides nestes pacientes<sup>146</sup>.

A elevação de EROs na gestação parece ser uma condição fisiológica que sofre modulação nos diferentes trimestres gestacionais e se caracteriza pela demanda do metabolismo fetal correspondente ao aporte de nutrientes e oxigênio, e à ativação do trabalho de parto<sup>155</sup>. Basu *et al* .<sup>156</sup>, em estudo recente, avaliaram placentas de gestações saudáveis e observaram aumento de produtos de peroxidação lipídica no primeiro trimestre gestacional comparado ao segundo e terceiro trimestres, e nos dois últimos a atividade antioxidante estava elevada. Desse modo, a possível explicação dos autores, seria o aumento do estresse oxidativo na fase inicial da gravidez e, conforme a gestação progride, os mecanismos protetores antioxidantes da placenta aumentam, resultando em menor estresse oxidativo. Mert *et al* .<sup>157</sup> e Ramiro-Cortijo *et al* .<sup>158</sup> relataram que além do envolvimento do desequilíbrio do sistema redox em gestações normais, a maior atividade oxidante esteve relacionada com complicações, tais como, pré-eclâmpsia, diabetes gestacional e restrição de crescimento intrauterino. Hernandez *et al* .<sup>159</sup> avaliaram placentas de mulheres sob TARV (zidovudina), no primeiro trimestre gestacional e, além dos elevados níveis de MDA e proteína carbonilada, houve redução da atividade mitocondrial e apoptose celular. Estes achados podem ser a base etiológica das complicações gestacionais, inclusive este estudo fornece dados para a suposta toxicidade deste antirretroviral administrado em gestantes infectadas pelo HIV.

Além do mais, os resultados de Schoeman *et al* .<sup>160</sup> corroboram com Hernandez *et al* .<sup>159</sup> que discutem o uso de antirretrovirais no período gestacional e sua teratogenicidade. Os mesmos autores estudaram bebês que foram expostos ao HIV e à TARV no ambiente intrauterino e constataram que

além da desregulação dos níveis de EROs, os bebês apresentaram aumento de triglicerídeos e atividade anti-inflamatória reduzida, o que pode comprometer a resposta imune frente às infecções.

## 2. HIPÓTESE

Mulheres infectadas pelo HIV, durante a gestação e pós-parto, apresentam maior translocação microbiana e ativação imune, além do intenso desequilíbrio do sistema *redox* em comparação às não infectadas e/ou não grávidas.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

Avaliar a translocação microbiana, ativação imune e estado *redox* durante a gestação e pós-parto de mulheres infectadas pelo HIV.

#### 3.2. Objetivos específicos

- 1- Estimar o dano da barreira epitelial intestinal;
- 2- Verificar a ocorrência de translocação microbiana e ativação imune;
- 3- Investigar a resposta humoral;
- 4- Determinar as respostas celulares Th1, Th2 e Th17;
- 5- Estimar a atividade antioxidante;
- 6- Determinar a peroxidação lipídica;
- 7- Avaliar a oxidação e modificação de proteínas;
- 8- Avaliar as contagens de linfócitos T CD4+ e CV plasmática do HIV para as gestantes infectadas por esse vírus;

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1. Casuística**

Foram estudadas 39 mulheres, sendo que as infectadas pelo HIV eram atendidas no Serviço de Ambulatórios Especializados de Infectologia “Domingos Alves Meira” (SAEI-DAM), do Complexo “Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) e Hospital das Clínicas da FMB (HCFMB)–UNESP”. As gestantes não infectadas foram recrutadas no HCFMB e as participantes não gestantes foram incluídas entre as doadoras de sangue no Hemocentro de Botucatu (HCFMB).

A amostra estudada foi por conveniência e dividida em quatro grupos, sendo 13 gestantes com infecção confirmada pelo HIV (G1), 10 gestantes não infectadas (G2), 10 mulheres saudáveis não gestantes (G3) e seis mulheres infectadas pelo HIV e não gestantes (G4).

### **4.2. Métodos**

#### **4.2.1. Critérios de inclusão e exclusão**

As gestantes foram incluídas no primeiro (primeira à 13ª semanas) ou no segundo trimestres gestacionais (14ª à 27ª semanas). A opção por incluir os dois períodos gestacionais se deu na expectativa de garantir número maior de mulheres, além daquelas que descobriram a gestação e/ou a infecção tardiamente. As mulheres não gestantes foram incluídas aquelas em menacme, ou seja, desde a menarca até a menopausa (45-50 anos). A infecção pelo HIV foi confirmada para as 19 mulheres que compuseram os dois grupos de infectadas.

A inclusão das participantes foi realizada no período de março de 2016 a fevereiro de 2019. A coleta sanguínea das gestantes foi realizada em todos os momentos e não houve perda de seguimento

de nenhuma participante. A coleta do corte transversal, ou seja, das não gestantes, ocorreu no mesmo período do grupo experimental, uma única vez.

Foram excluídas as mulheres com diagnóstico de câncer, de doenças autoimunes, transplantadas de órgãos, imunossuprimidas e em uso crônico de corticoides.

#### 4.2.2. Delineamento do estudo

No caso da inclusão das gestantes, o estudo longitudinal foi conduzido em diferentes momentos (Figura 8):

- **Momento zero (M0):** correspondeu às coletas sanguíneas das mulheres no 1º ou 2º trimestres gestacionais, sendo elas infectadas e não infectadas pelo HIV.
- **Momento 1 (M1):** correspondeu às coletas sanguíneas das mulheres no 3º trimestre gestacional, em torno de 36 semanas, sendo elas infectadas e não infectadas pelo HIV.
- **Momento 2 (M2):** correspondeu às coletas sanguíneas no puerpério tardio, das mulheres incluídas no M0 e M1, no retorno da consulta ambulatorial, com aproximadamente três meses pós-parto.

O corte transversal foi composta por mulheres não gestantes, tanto infectadas quanto não infectadas pelo HIV, no qual a coleta sanguínea foi realizada uma única vez (Figura 8).

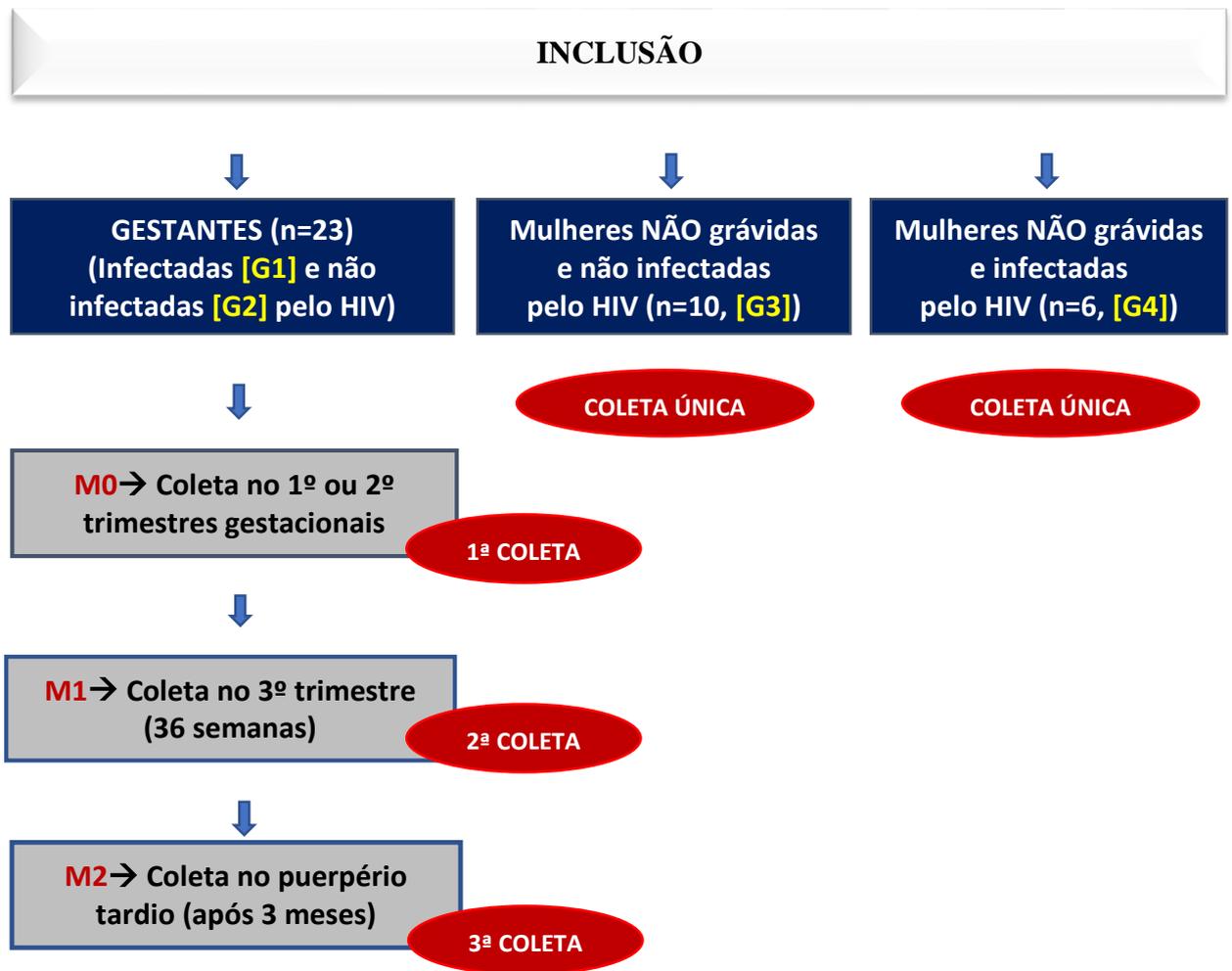


Figura 8. Delineamento do estudo.

A partir do delineamento foram propostos dois modelos experimentais:

- **Modelo em medidas repetidas avaliando a interação grupos versus momentos (longitudinal).** Para a composição desse modelo experimental as participantes foram distribuídas em dois grupos:

- **G1:** gestantes infectadas pelo HIV (n=13);
- **G2:** gestantes não infectadas pelo HIV (n=10).

Não foram incluídas neste modelo as participantes não grávidas, infectadas e não infectadas, pois para estas últimas, houve apenas uma coleta.

- **Modelo com dois fatores de classificação com interação (esquema fatorial).**

Para a composição do modelo experimental as participantes foram classificadas:

- **Fator gestação (G):** fixou-se gestação e foram avaliados os efeitos infecção (i) e não infecção (ni) → **G = i x ni** (nos M0 e M1);
- **Fator não gestação (NG):** fixou-se não gestação e foram avaliados os efeitos infecção e não infecção → **NG = i x ni** (nos M0 e M1);
- **Fator infecção (I):** fixou-se infecção e foram avaliados os efeitos gestação e não gestação → **I = g x ng** (nos M0 e M1);
- **Fator não infecção (NI):** fixou-se não infecção e foram avaliados os efeitos gestação e não gestação → **NI = g x ng** (nos M0 e M1);
- **Fator pós-gestação (PG):** fixou-se pós-gestação e foram avaliados os efeitos infecção (i) e não infecção → **PG = i x ni** (no M2);
- **Fator não gravidez (NG):** fixou-se não pós-gestação (aquelas que não estiveram grávidas) e foram avaliados os efeitos infecção (i) e não infecção → **NG = i x ni** (no M2).

Neste modelo foram também incluídas as participantes não grávidas, infectadas e não infectadas, porém, seus resultados referiram-se a apenas uma coleta, para comparação entre os três momentos dos demais grupos.

#### 4.2.3. Coleta de dados

A coleta dos dados sociodemográficos foi realizada pela própria pesquisadora por meio de entrevista utilizando ficha padronizada e previamente testada para esta pesquisa, contendo informações referentes à etnia, idade no momento da inclusão no estudo, estado civil, escolaridade, uso de

suplementação vitamínica, idade gestacional, tempo de infecção pelo HIV, uso e duração de TARV. Dados de contagens de T CD4+ e CV do HIV foram coletados dos prontuários médicos.

#### 4.2.4. Realização dos exames laboratoriais

Foram coletados 10 mL de sangue em tubos com anticoagulante (ácido etilenodiamino tetraacético - EDTA) de todas as participantes. O sangue foi centrifugado a 1500 rpm por 10 minutos em temperatura ambiente. O plasma aliqotado foi estocado em *freezer* -80°C, até a realização dos testes laboratoriais específicos.

Dosagem das Citocinas: as dosagens das citocinas IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-17, IL-2 e IL-4 foram realizadas por técnica de citometria de fluxo (CBA - *cytometric bead array*), utilizando *Kits* comerciais (BD- *Becton, Dickinson and Company*) e de acordo com as indicações do fabricante. A escolha da técnica deveu-se à pequena quantidade de amostras necessárias para sua realização, quando comparadas ao ensaio imunoenzimático (ELISA) convencional. O princípio da técnica de CBA baseia-se no uso de até seis populações de microesferas com diferentes intensidades de fluorescência; cada população de microesferas é sensibilizada com anticorpos de captura específicos para as citocinas de interesse. A intensidade de fluorescência, a partir do citômetro, indica a quantidade de citocinas presentes nas amostras. Foi necessário fazer, em conjunto com as amostras, padrões contendo concentrações conhecidas de cada citocina, para a curva e leitura com os limites de detecção respectivos. Os resultados foram obtidos em fentograma (fg)/mL.

Dosagens dos marcadores de translocação microbiana e ativação imune: os biomarcadores foram quantificados pelo método ELISA e conduzido de acordo com as especificações de cada fabricante: LPS (*abexxa*, ng/ml); *Human iFABP* (*Hycult Biotech*, pg/ml); *Human EndoCAb* (*Hycult Biotech*, MU/ml) e *Human sCD14* (*R&D Quantikine*, ng/ml).

Dosagens dos produtos de estresse oxidativo: para a quantificação do MDA foram utilizados 250  $\mu\text{L}$  de plasma para 750  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético 10% para precipitação de proteínas. As amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante retirado. Foi adicionado ao sobrenadante ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,67% na proporção (1:1) e as amostras foram aquecidas por 15 minutos a 100°C. O MDA reagiu com o TBA na proporção 1:2 MDA-TBA e, após resfriamento, a leitura foi realizada a 535 nm em leitor de microplaca Spectra Max 190 (Molecular Devices®, Sunnyvale, CA, USA). A concentração de MDA foi obtida através do coeficiente de extinção molar ( $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) e das absorbâncias das amostras e o resultado final expresso em nmol/g de proteína<sup>161</sup>.

A carbonilação foi quantificada por método adaptado de Mesquita *et al*.<sup>162</sup> em 100  $\mu\text{L}$  de plasma para 100  $\mu\text{L}$  de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) (10 mM em HCl 2 M). As amostras foram incubadas por 10 minutos em temperatura ambiente e, posteriormente, adicionados 50  $\mu\text{L}$  de NaOH (6 M) e incubadas novamente por 10 minutos em temperatura ambiente. A leitura foi realizada a 450 nm em leitor de microplaca e o resultado obtido da absorbância das amostras e do coeficiente de extinção molar ( $22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). O resultado final foi expresso em nmol/mg de proteínas.

Dosagens das enzimas antioxidantes: a atividade da SOD foi determinada pela técnica de Crouch *et al*.<sup>163</sup>, tendo como base a capacidade da enzima inibir a redução do nitroblue-tetrazólico (NBT) por radicais livres gerados pela hidroxilamina em meio alcalino (pH 10). A hidroxilamina gera fluxo de  $\text{O}_2^-$  do NBT para blue-formazana em temperatura ambiente. Com a adição da amostra, a velocidade de redução do NBT foi inibida, conforme a porcentagem de SOD presente na amostra. A atividade da enzima foi expressa em unidade de massa atômica (U)/mg de proteínas totais (PT). A atividade da CAT foi determinada em tampão fosfato pH 7,0, utilizando 0,5 mL de amostra e peróxido de hidrogênio (30%), de acordo com Aebi H.<sup>171</sup>. As leituras foram realizadas a 240 nm.

Determinação de proteína total (PT): a proteína total realizada no plasma para correção das enzimas antioxidantes e produtos oxidantes. Foi realizada através do *Kit* comercial colorimétrico da marca Bioclin® e sua absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 545 nm.

#### 4.2.5 Análise estatística dos resultados

Inicialmente foi feita análise descritiva com o cálculo de média, desvio padrão, mínimo, máximo e mediana estratificando pelos fatores (gestantes, infecção e momentos).

A primeira comparação de médias foi feita considerando um delineamento com dois fatores de classificação (gestação e infecção) adicionado do grupo controle e avaliando a interação gestantes *versus* infecção para cada momento. Como houve apenas uma coleta dos grupos de não-gestantes, os valores foram repetidos para os demais momentos. Neste caso, para as variáveis que apresentaram distribuição simétrica, foi feita ANOVA com dois fatores e interação, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey. Para distribuição assimétrica foi ajustado um modelo com distribuição Gamma ao mesmo delineamento, seguido do teste de comparação múltipla de Wald. Para combinação gestação e infecção formando dois grupos foram feitas comparações entre os momentos usando medidas repetidas para avaliar a interação grupos *versus* momentos. Da mesma forma, para os dados que apresentaram distribuição simétrica foi utilizada ANOVA, seguida do teste de comparação múltipla de Tukey. Em caso de assimetria, o mesmo delineamento foi utilizado, mas ajustado para distribuição Gamma, seguido do teste de comparação múltipla de Wald. Em todos os testes foi fixado o nível de significância de 5% ou o *p-valor* correspondente. Todas as análises foram feitas pelo programa *SAS for Windows*, versão 9.4, com auxílio do profissional do Escritório de Apoio à Pesquisa da FMB-UNESP.

*Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMB-UNESP (Parecer nº 3.200.047 /2016) e todas as voluntárias concordaram em participar, com assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1).*

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Caracterização da população estudada

Os dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais estão apresentados na Tabela 1.

Todas as mulheres infectadas pelo HIV, gestantes e não gestantes, estavam sob TARV no momento da inclusão no estudo. Em relação ao tipo de terapia no período gestacional foi predominante a combinação de inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN), inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNN) e inibidores de protease (IP). No pós-parto, a combinação de ITRN e ITRNN foi indicada para a maioria das mulheres, enquanto que outras quatro haviam parado a medicação.

As médias das contagens de linfócitos T CD4<sup>+</sup> no período gestacional e no pós-parto das mulheres infectadas pelo HIV encontravam-se acima de 350 células/mm<sup>3</sup> e embora as CV estivessem indetectáveis para a maioria, no pós-parto, três mulheres apresentaram viremia acima do limite de detecção (40 cópias de RNA/mL).

**Tabela 1. Caracterização das 39 participantes quanto aos aspectos sociodemográficos, clínicos e laboratoriais**

	Gestantes HIV+ (G1, n=13)	Gestantes HIV- (G2, n=10)	Não gestantes HIV- (G3, n=10)	Não gestantes HIV+ (G4, n=6)
<b>Idade em anos; <math>\bar{x}</math>±DP</b>	25±7,16	31±4,33	31±7,60	39±9,69
<b>Cor da pele; n (%)</b>				
Branças	7(54)	9(90)	8(80)	3(50)
Não brancas	6(46)	1(10)	2(20)	3(50)
<b>Escolaridade em anos; n (%)</b>				
Ensino médio incompleto	7(54)	0	0	1(10)
Ensino médio completo	5(38)	6(60)	3(30)	5(90)
Ensino superior completo	1(8)	4(40)	7(70)	0
<b>Variáveis gestacionais</b>				
Idade gestacional na inclusão ( $\bar{x}$ , <i>semanas</i> )	15	18	NA	NA
Idade gestacional no parto ( $\bar{x}$ , <i>semanas</i> )	38	40	NA	NA
Tipo de parto (vaginal/cesárea)	4/6	7/3	NA	NA
<b>Uso de suplementos; n (%)</b>				
Ácido fólico	8(61)	8(80)	NA	NA
Sulfato ferroso	5(38)	3(30)	NA	NA
Polivitamínico	0	3(30)	NA	NA
<b>Variáveis laboratoriais</b>				
T CD4+ gestacional $\bar{x}$ ±DP	655±294	NA	NA	892±101
T CD4+ pós-parto/não gestacional $\bar{x}$ ±DP	607±233	NA	NA	892±101
CV detectável gestacional; n (%)	7(54)	NA	NA	-
CV detectável pós-parto/não gestacional; n (%)	3(23)	NA	NA	0
CV indetectável gestacional; n (%)	6(46)	NA	NA	-
CV indetectável pós-parto/não gestacional; n (%)	10(76)	NA	NA	6(100)
<b>Diagnóstico do HIV e TARV; <math>\bar{x}</math> (min-máx)</b>				
Tempo de infecção em meses	68(1-228)	NA	NA	280(216-384)
Tempo de TARV em meses	47(1-205)	NA	NA	248(168-336)
<b>TARV gestacional; n (%)</b>				
ITRN +IP	7 (54)	NA	NA	NA
ITRN+ITRNN	3 (24)	NA	NA	NA
Outros	3 (24)	NA	NA	NA
<b>TARV pós-parto e não gestacional; n (%)</b>				
ITRN +IP	3 (23)	NA	NA	2 (33)
ITRN+ITRNN	6 (46)	NA	NA	4 (66)
Sem medicação	4 (31)	NA	NA	0

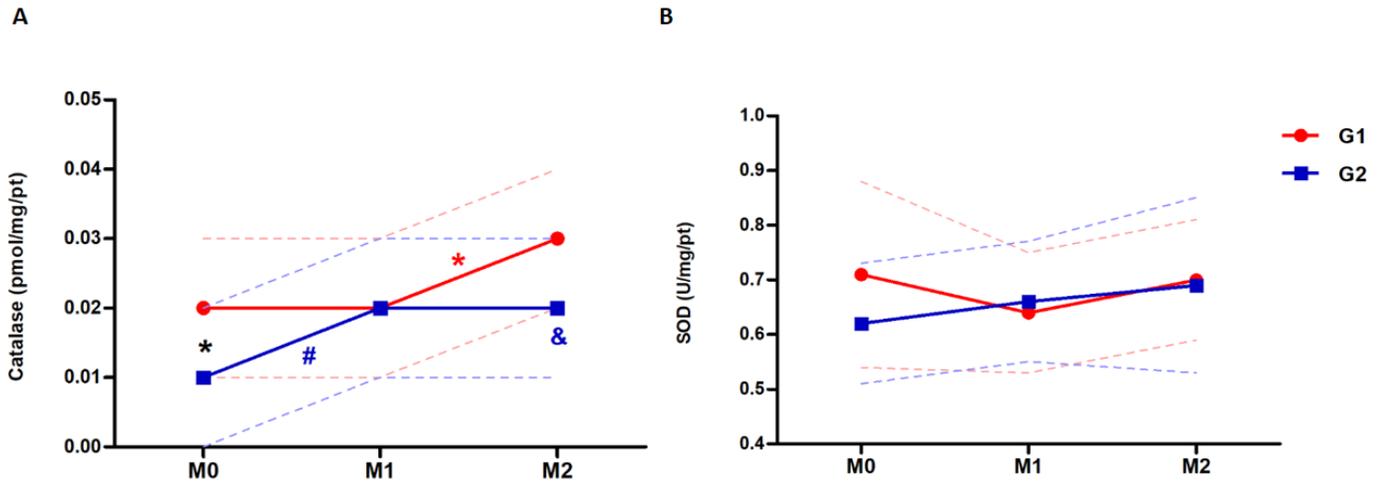
NA= não se aplica; ( $\bar{x}$ ) = *médias*; n= número de pessoas; DP= desvio-padrão; min= valor mínimo; máx= valor máximo; CV= carga viral do HIV; TARV= terapia antirretroviral; ITRN= inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo; ITRNN= inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo; IP= inibidor de protease; Contagem de linfócitos T CD4+ expressa em céls/mm<sup>3</sup>.

## 5.2. Resultados do modelo longitudinal

### 5.2.1. Estresse oxidativo

Para análise do estado redox foram investigados antioxidantes endógenos, como as atividades enzimáticas de SOD e CAT, e oxidação de proteínas pela aferição da carbonilação. Para o G1, foi possível observar a elevação da CAT no M2 em relação a M1 ( $p=0,03$ ), enquanto que para o G2, o M0 apresentou menor atividade enzimática comparado aos outros momentos e ao G1 [(M0 x M1  $p=0,0004$ ), (M0 x M2  $p=0,001$ ) e (G1 x G2  $p= 0,05$ ) figura 9.A]. No entanto, não foi observado alterações de SOD na evolução do período gestacional para o pós-parto, em nenhum dos grupos (figura 9.B).

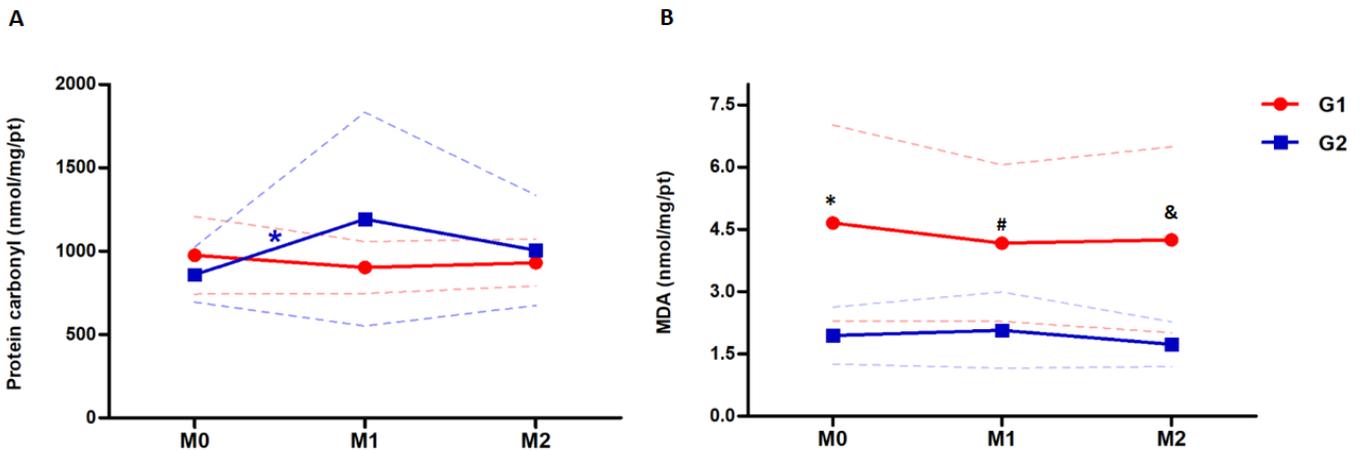
Para a carbonilação, a única diferença encontrada foi para o G2, entre os M0 e M1 ( $p=0,01$ ) (figura 10.A), enquanto que o MDA foi maior em todos os momentos de G1 comparados aos momentos de G2 [(M0  $p< 0,0001$ , M1  $p=0,0005$  e M2  $p<0,0001$ ) figura 10.B].



**Figura 10. Avaliação longitudinal dos antioxidantes de 23 gestantes infectadas e não infectadas pelo HIV.**

Linhas tracejadas: desvios padrões. M0: momento zero (primeiro ou segundo trimestre gestacional), M1: momento 1 (período pré-parto), M2: momento 2 (período pós-parto). G1 vermelho: gestantes infectadas pelo HIV, G2 azul: gestantes não infectadas.

**A;** \* vermelho: diferença entre M1 e M2 ( $p=0,03$ ), # azul: diferença entre M0 e M1 ( $p=0,0004$ ); & azul: diferença entre M0 e M2 ( $p=0,001$ ). \*preto diferença entre G1 e G2: M0  $p=0,05$ . Análise estatística: ANOVA seguido de Tukey. Para distribuição assimétrica aplicou a distribuição Gamma seguido de Wald.



**Figura 2. Avaliação longitudinal dos oxidantes de 23 gestantes infectadas e não infectadas pelo HIV.**

Linhas tracejadas: desvios padrões. M0: momento zero (primeiro ou segundo trimestre gestacional), M1: momento 1 (período pré-parto), M2: momento 2 (período pós-parto). G1 vermelho: gestantes infectadas pelo HIV, G2 azul: gestantes não infectadas.

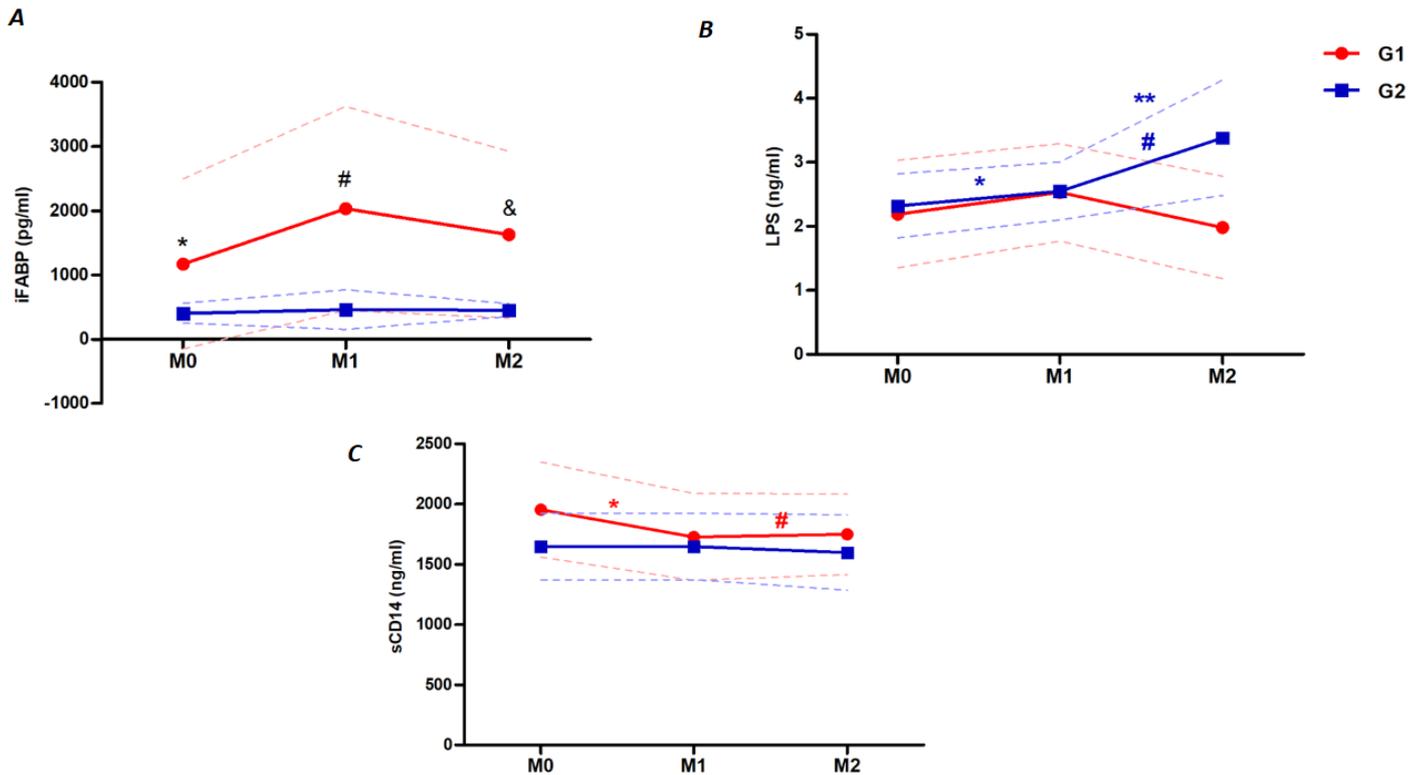
**A;** \* azul: diferença entre M0 e M1 ( $p=0,01$ ). **B;** G1 x G2: \* preto: M0  $p<0,0001$ , # preto: M1  $p=0,0005$  e & preto M2  $p<0,0001$ . Análise estatística: ANOVA seguido de Tukey. Para distribuição assimétrica aplicou-se a distribuição Gamma, seguido de Wald.

### 5.2.2. Translocação microbiana, resposta imune celular e humoral

No G1 e G2, a concentração plasmática de iFABP não demonstrou diferença na evolução da gestação ao pós-parto, no entanto, quando esta proteína foi comparada entre os grupos, o G1 apresentou maiores níveis em todos os momentos em relação a G2 (M0  $p=0,001$ ; M1  $p=0,009$ ; M2  $p<0,0001$ , figura 11.A). O LPS não diferiu no G1. Em contrapartida no G2, todos os momentos diferiram, e o M2 das gestantes não infectadas foi maior do que naquelas infectadas (M2  $p=0,0007$ ) (figura 11.B).

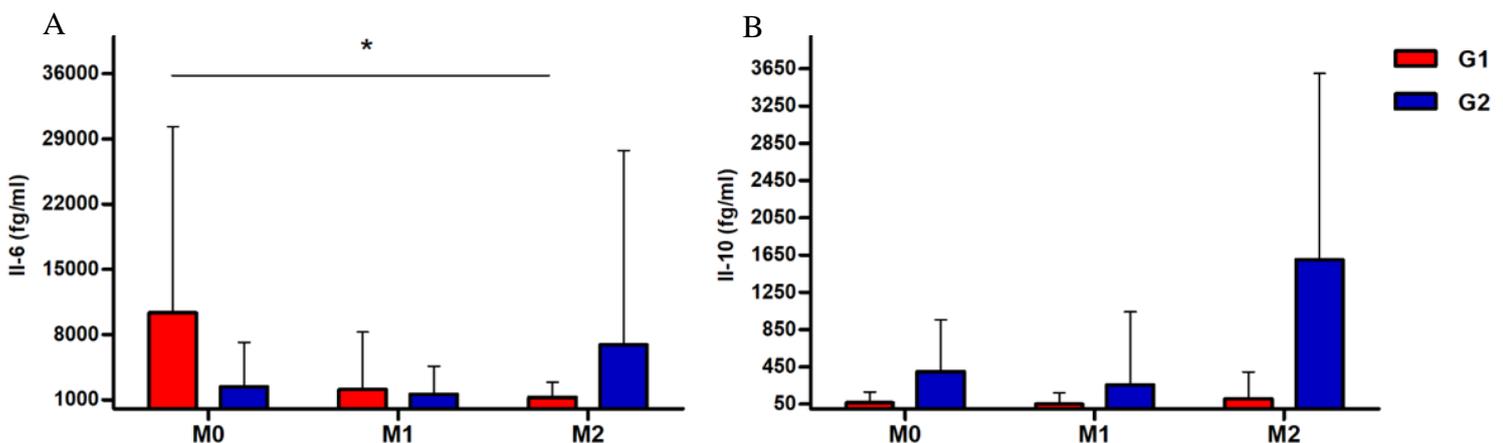
O níveis de sCD14 não diferiram entre os momentos do G2, porém para o G1, os M1 e M2 foram menores que M0 (M1  $p=0,01$  e M2  $p=0,04$ ); além disso, os níveis no M0 foram maiores para G1 quando comparado ao G2 ( $p=0,02$ ) (Figura 11.C).

As citocinas TNF- $\alpha$ , IL-17, IL-2 e IL-4 estavam abaixo do limite de detecção, desse modo não foram apresentadas. A citocina anti-inflamatória IL-10 não apresentou diferença estatística entre os grupos e os momentos analisados (Figura 12.B). Já a quantificação plasmática de IL-6 foi maior no M0 em relação ao M2 do G1 ( $p=0,003$ ) e, apesar, de demonstrar níveis superiores ao M1, não houve diferença ( $p=0,35$ ) (Figura 12.A).



**Figura 11. Avaliação da translocação microbiana de 23 gestantes infectadas e não infectadas pelo HIV**

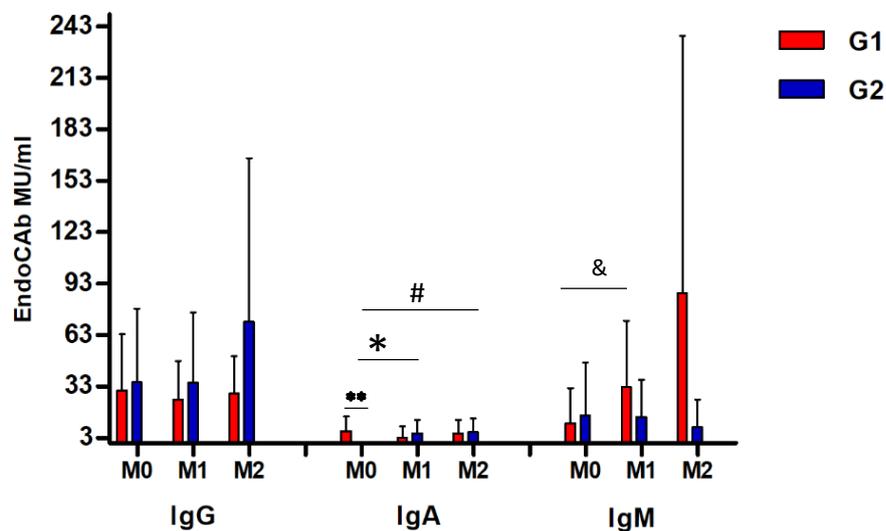
Linhas tracejadas: desvios padrões. M0: momento zero (primeiro ou segundo trimestre gestacional), M1: momento 1 (período pré-parto), M2: momento 2 (período pós-parto). G1 vermelho: gestantes infectadas pelo HIV, G2 azul: gestantes não infectadas. A: G1 x G2 (\*M0  $p=0,001$ ); (# M1  $p=0,009$ ) (& M2  $p<0,0001$ ). B: G1 x G2 (M2  $p=0,0007$ ), \*azul: diferença entre M0 e M1 ( $p=0,05$ ), \*\*azul: diferença entre M0 e M2 ( $p<0,0001$ ) e # azul: diferença entre M1 e M2 ( $p<0,0001$ ). C: G1 x G2 (M0  $p=0,02$ ). \* vermelho: diferença entre M0 e M1 ( $p=0,01$ ); # vermelho: diferença entre M0 e M2 ( $p=0,04$ ). Análise estatística: ANOVA seguido de Tukey. Para distribuição assimétrica aplicou a distribuição Gamma seguido de Wald.



**Figura 12. Avaliação da ativação e resposta imune celular de 23 gestantes infectadas e não infectadas pelo HIV**

M0: momento zero (primeiro ou segundo trimestre gestacional), M1: momento 1 (período pré-parto), M2: momento 2 (período pós-parto). G1 vermelho: gestantes infectadas pelo HIV, G2 azul: gestantes não infectadas. A: \* diferença entre o M0 e M2 ( $p=0,003$ ). Análise estatística: ANOVA seguido de Tukey. Para distribuição assimétrica aplicou a distribuição Gamma seguido de Wald.

Dentre as imunoglobulinas relacionadas à translocação microbiana, apenas a IgG não apresentou diferença entre os grupos e os momentos analisados. Diferentemente, a IgA foi maior no M0 do G1 comparado ao mesmo momento do G2 ( $p=0,001$ ). Para o G2, a IgA observada no M0 foi menor em relação aos outros momentos (M0 x M1  $p=0,01$ , M0 x M2  $p=0,02$ ), não havendo diferença no G1 ( $p=0,07$ ). No G1, apesar da IgM demonstrada indicar aumento no M2, a diferença foi encontrada apenas entre o M0 e M1 deste grupo ( $p=0,02$ ), cujo M0 apresentou menor concentração desta imunoglobulina. A ativação imune humoral inferida pelo EndoCAb (IgG, IgA e IgM) estão demonstradas na figura 13.



**Figura 13. Avaliação da resposta imune humoral de 23 gestantes infectadas e não infectadas pelo HIV**

M0: momento zero (primeiro ou segundo trimestre gestacional), M1: momento 1 (período pré-parto), M2: momento 2 (período pós-parto). G1 vermelho: gestantes infectadas pelo HIV, G2 azul: gestantes não infectadas. IgA: \*\*G1 x G2 (M0  $p=0,001$ ); \* diferença entre M0 e M1 ( $p=0,01$ ), # diferença entre M0 e M2 ( $p=0,02$ ). IgM: & diferença entre M0 e M1 ( $p=0,02$ ). Análise estatística: ANOVA seguido de Tukey. Para distribuição assimétrica aplicou a distribuição Gamma seguido de Wald.

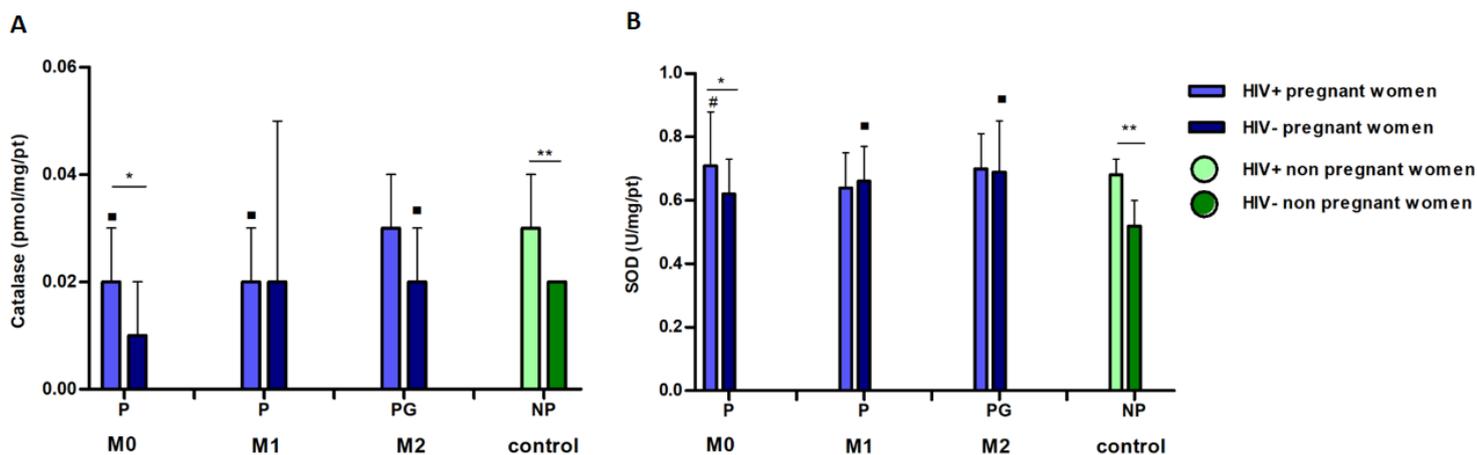
### 5.3. Resultados do modelo fatorial

#### 5.3.1. Estresse oxidativo

A atividade antioxidante está demonstrada na figura 14. Na figura 14.A, para o fator gestação no M0, a infecção demonstrou aumento na atividade da CAT, comparado às mulheres não infectadas ( $p=0,02$ ). Fixando a infecção, a atividade da CAT foi menor para gestantes infectadas, comparadas às

não gestantes infectadas, tanto no M0 ( $p=0,01$ ) quanto no M1 ( $p=0,004$ ). No M2, os níveis de CAT foram maiores para as mulheres não infectadas no pós-parto, comparadas às mulheres que não estiveram grávidas e não eram infectadas ( $p=0,01$ ). Comparando infecção e não infecção (grupo controle), de acordo com o fator não gestação, a CAT foi maior nas infectadas ( $p=0,0008$ )

Para a SOD, figura 14.B, no M0, fixando o fator gestação, as infectadas tiveram maior consumo desta enzima ( $p=0,04$ ). No M1, quando foi estabelecido o fator não infecção, as gestantes apresentaram maiores níveis de SOD em relação às não gestantes ( $p=0,006$ ). A SOD apresentou maior consumo no pós-parto das mulheres não infectadas, em relação às mulheres que não estiveram grávidas ( $p=0,006$ ). O fator não gestação, comparando infecção e não infecção (grupo controle), a SOD foi maior nas infectadas do que nas não infectadas ( $p=0,007$ ).



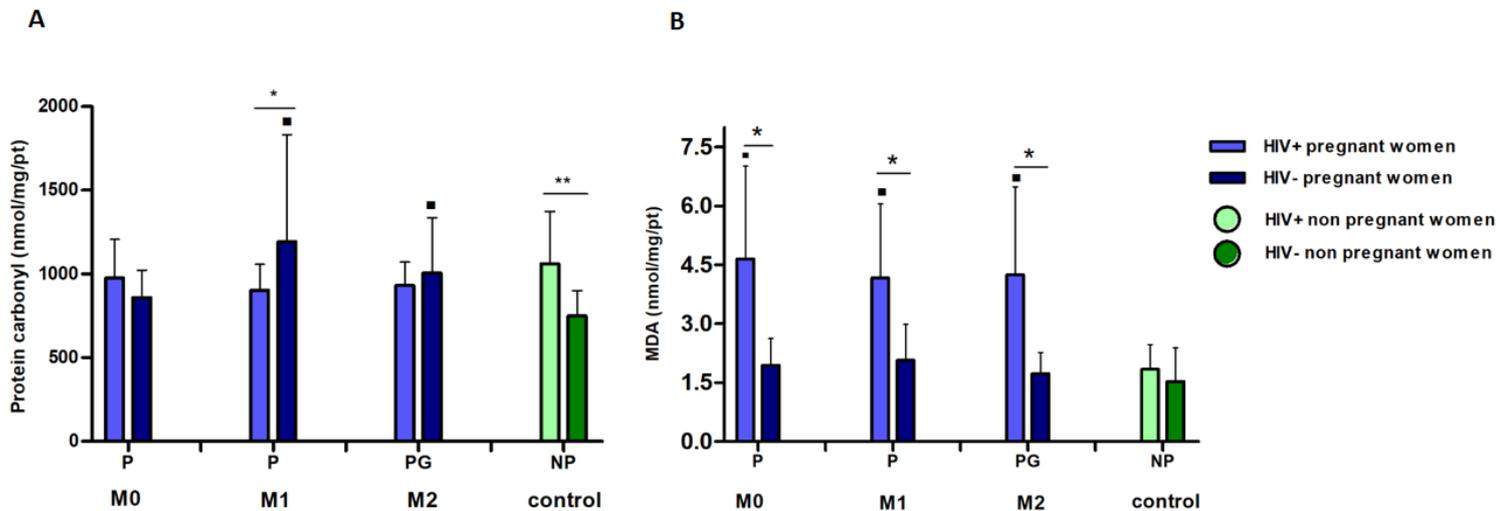
**Figura 14. Avaliação fatorial dos antioxidantes de 39 gestantes e não gestantes infectadas e não infectadas pelo HIV**

M0: momento zero (primeiro ou segundo trimestre gestacional), M1: momento 1 (pré-parto), M2: momento 2 (pós-parto). **M0 e M1** P: pregnancy. **M2** PG: pos gestational. **Control** NP: non pregnant. NI: não infecção, I: infecção.

**A: M0** \* $G=i \times ni$   $p=0,002$ , quadrado preto  $I= g \times ng$   $p=0,001$ . **M1** quadrado preto  $I= g \times ng$   $p=0,004$ . **M2** quadrado preto  $NI=pg \times ng$   $p=0,01$ . **Control** \*\*  $NG=I \times ni$   $p=0,002$ . **B: M0** \* $G=i \times ni$   $p=0,04$ , **M1** quadrado preto  $NI=g \times ng$   $p=0,006$ . **M2** quadrado preto  $NI=pg \times ng$   $p=0,006$ . **Control** \*\* $NG=i \times ni$   $p=0,004$ . Análise estatística: ANOVA seguido de Tukey. Para distribuição assimétrica aplicou a distribuição Gamma seguido de Wald.

No M1, as gestantes não infectadas apresentaram maior carbonilação quando comparadas às infectadas ( $p=0,01$ ), figura 15.A. Quando foi fixado o fator não infecção, os níveis de proteína carbonilada foram maiores para as gestantes no M1 ( $p=0,0003$ ) e no pós-parto ( $p=0,004$ ).

Na avaliação da peroxidação lipídica, observaram-se maiores níveis de MDA em gestantes infectadas pelo HIV comparadas às não infectadas em todos os momentos (M0  $p=0,0002$ , M1  $p=0,003$  e M2  $p<0,0001$ ) (Figura 15.B). Quando fixado a infecção, comparando gestação e não gestação, as gestantes tiveram maior MDA do que as não gestantes, em todos os momentos analisados (M0  $p=0,001$ , M1  $p=0,009$  e M2  $p=0,003$ ).



**Figura 15. Avaliação fatorial dos oxidantes de 39 gestantes e não gestantes infectadas e não infectadas pelo HIV.**

M0: momento zero (primeiro ou segundo trimestre gestacional), M1: momento 1 (pré-parto), M2: momento 2 (pós-parto). **M0 e M1** P: pregnancy. **M2** PG: pos gestational. **Control** NP: non pregnant. NI: não infecção, I: infecção.

**A: M1** \* $G=i \times ni$   $p=0,01$ , quadrado preto  $NI= g \times ng$   $p=0,003$ . **M2** quadrado preto  $NI= pg \times ng$   $p=0,004$ . **Control** \*\* $NG=i \times ni$   $p=0,002$ . **B: M0** \* $G=i \times ni$   $p=0,002$ , quadrado preto  $NI=g \times ng$   $p=0,001$ . **M1** \* $G=i \times ni$   $p=0,003$ , quadrado preto  $NI=g \times ng$   $p=0,009$ .

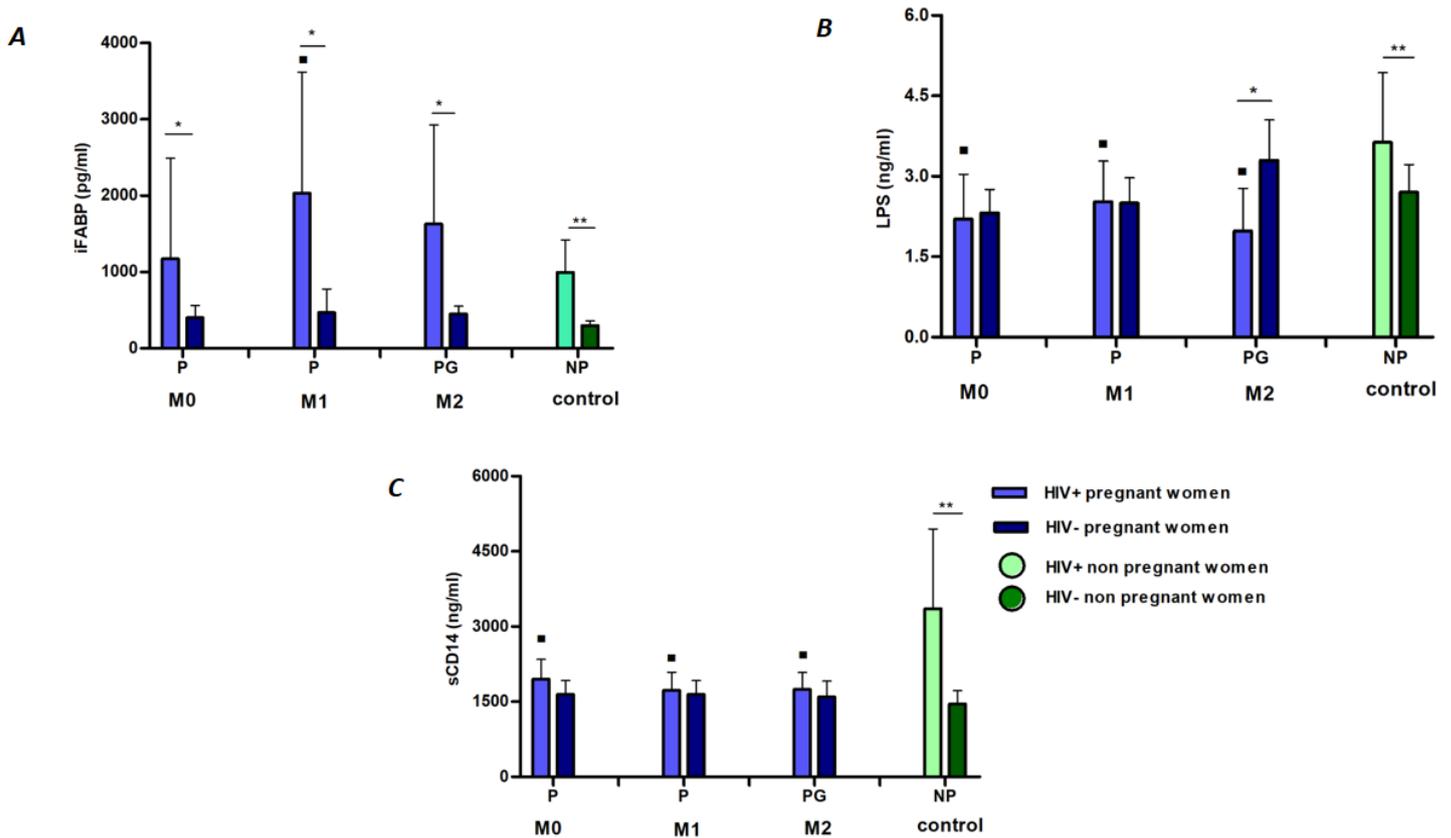
**M2** \* $G=i \times ni$   $p<0,0001$ , quadrado preto  $NI=g \times ng$   $p=0,003$ . Análise estatística: ANOVA seguido de Tukey. Para distribuição assimétrica aplicou a distribuição Gamma seguido de Wald.

### 5.3.2. Translocação microbiana, resposta imune celular e humoral

Na figura 16.A, demonstrada pelos níveis plasmáticos de iFABP, destacam-se as mulheres infectadas e o aumento desta proteína em relação às não infectadas para todos os momentos. Para todos os momentos, houve diferença quando estabelecido o fator gestação, avaliando a infecção e não infecção (M0  $p=0,003$ , M1  $p=0,001$  e M2  $p=0,007$ ).

O LPS, foi maior quando estabelecido o fator não gestação (grupo controle), comparando infecção e não infecção ( $p=0,004$ ) e, também foi maior para as mulheres infectadas e não grávidas em relação às grávidas (M0  $p=0,0005$ , M1  $p=0,008$  e M2  $p=0,0001$ ) (Figura 16.B). No M2, as mulheres não infectadas apresentaram maiores níveis de LPS no pós-parto em relação às mulheres infectadas no mesmo período ( $p=0,004$ ).

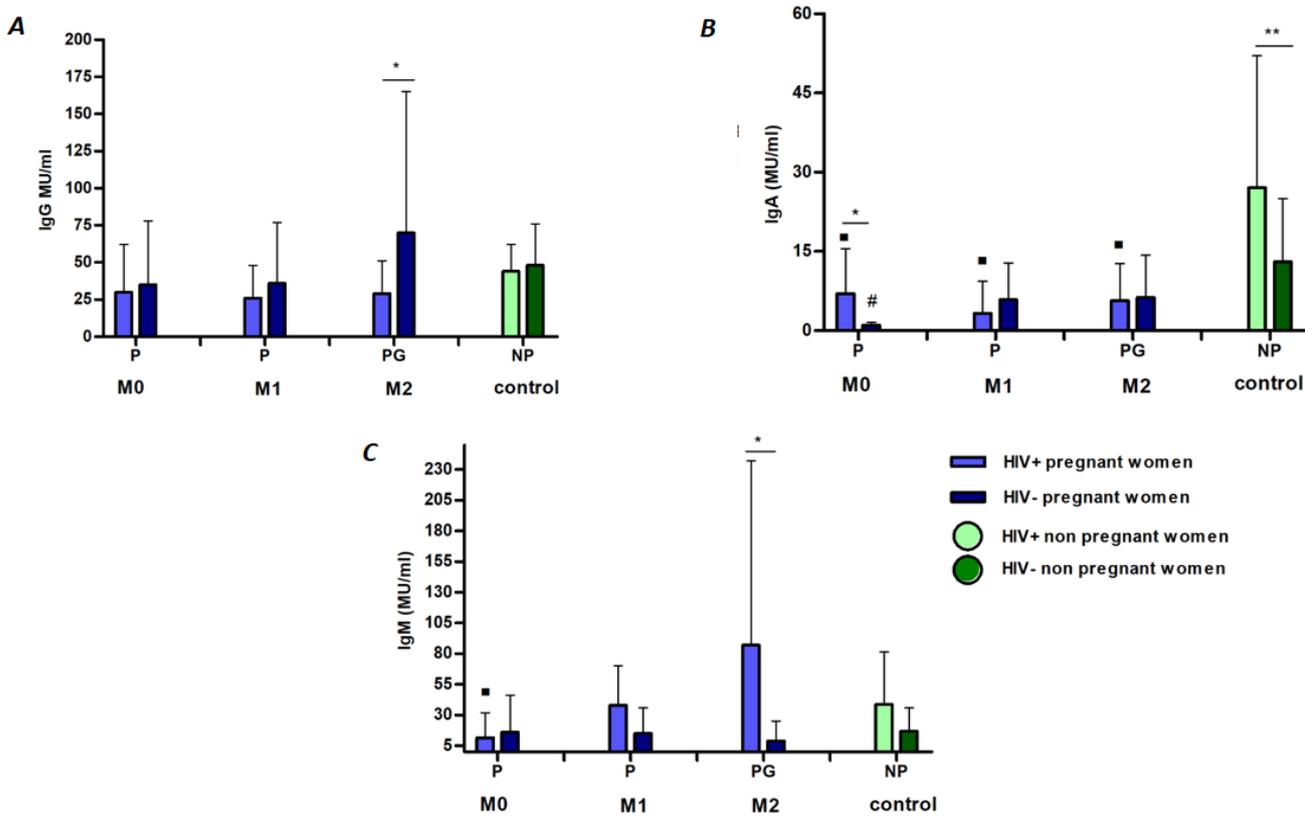
A ativação imune inferida pela avaliação plasmática de sCD14 está demonstrada na figura 16.C. Dentre as não gestantes, maiores níveis foram observados para as infectadas comparadas às não infectadas (M0  $p<0,0001$ ) e, para o fator infecção, este aumento foi mais evidente entre as não gestantes em relação às gestantes (M0  $p<0,0001$ , M1  $p<0,0001$  e M2  $p<0,0001$ ).



**Figura 16. Avaliação da translocação microbiana e ativação imune de 39 gestantes e não gestantes infectadas ou não pelo HIV** M0: momento zero (primeiro ou segundo trimestre gestacional), M1: momento 1 (período pré-parto), M2: momento 2 (período pós-parto). Azul claro: infecção. Azul escuro: não infecção **M0 e M1** G: gestação, NG: não gestação. **M2**: PG: pós gestação, NG: não gravidez. NI: não infecção, I: infecção.

**A:** M0 \*G=i x ni p=0,03. M1 \*G=i x ni p=0,01, quadrado preto I=g x ng p=0,05 M2 \*PG=i x ni p=0,007. **B:** M0 quadrado preto I=g x ng p=0,0005. M1 quadrado preto I=g x ng p=0,0008. M2 \*PG=i x ni p=0,004, quadrado preto I=pg x ng p=0,0001. **C:** M0 quadrado preto I=g x ng p<0,0001. M1 quadrado preto I=g x ng p<0,0001. M2 quadrado preto I=pg x ng p<0,0001. ANOVA seguido de Tukey. Para distribuição assimétrica aplicou a distribuição Gamma seguido de Wald.

Os resultados de EndoCab (IgG, IgA e IgM) estão demonstrados na figura 17.



**Figura 17. Avaliação da resposta imune humoral de 39 gestantes e não gestantes infectadas e não infectadas pelo HIV**

M0: momento zero (primeiro ou segundo trimestre gestacional), M1: momento 1 (pré-parto), M2: momento 2 (pós-parto). **M0 e M1** P: pregnancy. **M2** PG: pos gestational. **Control** NP: non pregnant. NI: não infecção, I: infecção.

**A:** M2 \*PG= $i \times ni$   $p=0,04$ . **B:** M0 \*G= $i \times ni$   $p=0,02$ , quadrado preto I=  $g \times ng$   $p=0,0008$ , # NI=  $g \times ng$   $p=0,02$ . M1 quadrado preto I=  $g \times ng$   $p<0,0001$ . M2 quadrado preto I=  $pg \times ng$   $p=0,0005$ , \*\* NG=  $i \times ni$   $p=0,02$ . **C:** M0 quadrado preto I=  $g \times ng$   $p=0,03$ . M2 \*PG=  $i \times ni$   $p=0,05$ . Análise estatística: ANOVA seguido de Tukey. Para distribuição assimétrica aplicou a distribuição Gamma seguido de Wald.

Não houve diferença para a IgG durante o período gestacional, no entanto, o pós-parto das mulheres não infectadas refletiu maior expressão desta imunoglobulina, quando comparadas às infectadas ( $p=0,04$ ) (Figura 17.A).

A IgA (Figura 17.B), por sua vez, entre as não gestantes, maiores níveis foram observados para as infectadas comparadas às não infectadas ( $p=0,02$ ), e para o fator infecção, este aumento foi maior entre as não gestantes em relação às gestantes (M0  $p=0,0008$ , M1  $p<0,0001$  e M2  $p=0,0005$ ). No M0, foi observado que quando fixou-se a gestação, as infectadas apresentaram maiores níveis de

IgA ( $p=0,05$ ). Ainda neste momento, para as não infectadas, houve diferença entre ser ou não gestante ( $p=0,02$ ), sendo maior nesta última.

No M0, a IgM dentre as infectadas foi maior para as não gestantes comparadas às gestantes ( $p=0,03$ ) e, no pós-parto, as infectadas apresentaram elevação desta imunoglobulina em relação às não infectadas ( $p=0,05$ ) (Figura 17.C).

## 6. DISCUSSÃO

Das 39 mulheres incluídas no estudo, a média de idade geral foi de 31,5 ( $\pm 7,18$ ) anos, com maior prevalência da cor de pele branca (70%). De forma geral, estes dados assemelham-se às tendências observadas no contexto nacional, cuja concentração de casos é observada em indivíduos brancos e na faixa etária de 25 a 39 anos<sup>2</sup>.

Em relação aos exames laboratoriais das gestantes infectadas, as contagens de linfócitos T CD4+ apresentaram-se em sua grande maioria, acima de 500 células/mm<sup>3</sup>, situação imunológica que reflete na estabilidade clínica e que se é esperada de acordo com o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos<sup>165</sup>. No entanto, 54,0% dessas gestantes, possuíam CV acima do limite de detecção no momento da inclusão no estudo, o que provavelmente correspondeu ao diagnóstico da infecção e início do tratamento, sendo este um fator preponderante tanto para prevenção da transmissão vertical, quanto para aqueles conflitos inerentes ao processo da gestação.

A TARV é indicada para toda gestante infectada pelo HIV, independente de aspectos clínicos e imunológicos e que deve ser mantida após o parto. A TARV e a supressão viral (CV < 40 cópias/ml) são fatores determinantes na redução da transmissão vertical para menos de 1%<sup>166</sup>. De acordo com o PCDT para Prevenção da Transmissão Vertical de HIV, Sífilis e Hepatites Virais<sup>165</sup>, o esquema preferencial para início de tratamento em gestantes no Brasil deve ser composto por ITRN e inibidor de integrase, no entanto, o esquema terapêutico das gestantes do estudo foi na maioria (61%), composto por ITRN associado à ITRNN ou IP, introduzido conforme recomendação da época e mantido durante a gestação. Ademais, foi observado que quatro mulheres no pós-parto haviam parado a medicação, principalmente devido ao retorno ambulatorial tardio, bem como aos cuidados com os bebês e a indisciplina com o tratamento.

Assim, o presente estudo objetivou, de modo inédito, análise do estado redox, ativação imune e inflamação em dois diferentes modelos, um longitudinal, considerando a evolução gestacional e pós-parto de mulheres infectadas ou não pelo HIV e, um fatorial, considerando os fatores “infecção” e “gestação” isolados ou em conjunto.

O estresse oxidativo e a ativação do processo inflamatório desempenham papel crucial na progressão para aids. A variação no equilíbrio redox nas diferentes fases da infecção é explicada pela ação conjunta do vírus e da TARV, sendo que em PVHA tratadas ou não, há formação intensa de espécies reativas em paralelo à desregulação de porções antioxidantes endógenas<sup>144,145,150,153,167,168</sup>.

Na gestação, também ocorre intenso estresse oxidativo<sup>169</sup> devido, principalmente, às mudanças no uso de substratos energéticos e ao maior consumo de oxigênio<sup>170</sup>, sendo que esse estado é regulado por vários mecanismos fisiológicos, a fim de manter um equilíbrio contínuo entre a produção de radicais livres e a capacidade antioxidante da gestante, o que permite a progressão normal da gestação e crescimento fetal<sup>171</sup>.

Tanto no modelo longitudinal, quanto no fatorial, nos primeiros meses de gestação, as infectadas pelo HIV apresentavam maior atividade de SOD do que as não infectadas, enquanto no pré e pós-parto, a atividade desta enzima foi semelhante entre ambos os grupos. Assim, a gestação por si só, parece não alterar esta atividade enzimática. Excluindo o fator “gestação”, as infectadas também mostraram maior atividade de SOD do que aquelas não infectadas, o que sugere a influência do vírus neste mecanismo. Entretanto, excluindo o fator “infecção”, no pré e pós-parto das gestantes HIV-evidenciou-se maior atividade de SOD do que nas HIV- não grávidas. Como estas diferenças ocorreram apenas em HIV-, acreditamos que o fator isolado “gestação” leve a alterações significativas de SOD.

Ainda em relação às enzimas antioxidantes endógenas, no modelo fatorial, as HIV+ também tiveram maior atividade da CAT em relação às HIV-, sendo que, ao se considerar todas as HIV+, o fator “gestação” mostrou menores atividades desta enzima, cujo aumento foi observado apenas no período pós-parto no modelo longitudinal.

Considerando apenas a infecção pelo HIV, estes resultados são corroborados por Ibeh *et al*<sup>172</sup>, que também mostraram maior atividade de SOD e CAT em PVHA, do que em não infectados. De modo contrário, Osuji *et al*<sup>173</sup> verificaram que antes e 12 meses após introdução da TARV, os incluídos no estudo apresentaram menor atividade enzimática de SOD e CAT em relação ao grupo de não infectados. Entretanto, mesmo não atingindo os valores dos não infectados, após seis e 12 meses de TARV houve aumento significativo nestas enzimas, o que pode ser resultado de menor produção de EROs e radicais livres devido ao aumento progressivo das células T CD4+ e à diminuição da CV após TARV<sup>173</sup>.

Quando se considerou apenas a gestação, a literatura é bastante controversa. Enquanto o presente estudo destacou apenas atividade de CAT reduzida em gestantes infectadas, a atividade de SOD está sendo compensatória frente ao estresse oxidativo. Entretanto, de modo diferente, em estudo realizado em gestantes saudáveis, conduzido por Yüksel & Yiğit<sup>174</sup>, houve maior atividade de SOD e CAT e maior peroxidação lipídica (MDA) no primeiro trimestre. Já no estudo conduzido por de Lucca *et al*<sup>175</sup>, o dano oxidativo foi maior no segundo trimestre de gestação.

Estas divergências de dados podem ser atribuídas às características das populações estudadas, pois, no presente estudo, a grande maioria das participantes apresentava boa resposta imunológica, caracterizada pelas contagens de TCD4+ acima de 500 células/mm<sup>3</sup>. Considerando que a alta atividade antioxidante endógena possa exercer papel protetor em células T CD4+, limitando a infecção<sup>172</sup>, as mulheres incluídas no presente estudo podem conseguir regular os produtos pró-oxidantes gerados pela gestação e/ou infecção.

Os níveis de proteína carbonilada podem servir como marcador útil e sensível para identificação de danos às proteínas induzidas pelo estresse oxidativo, em resposta aos subprodutos EROs, como MDA<sup>176,177</sup>. Elas podem ser geradas de diferentes maneiras, como clivagem oxidativa de proteínas, ligação direta de resíduos de aminoácidos ou reação com MDA. Nos resultados de carbonilação do presente estudo, entre as gestantes, as não infectadas pelo HIV mostraram aumento desta proteína no pré-parto, tanto na análise longitudinal quanto fatorial, sendo que o fator gestação parece aumentar

estes níveis apenas nestas mulheres não infectadas. Excluindo o fator “gestação”, as HIV+ tiveram níveis mais elevados desta proteína. Assim, tanto a infecção quanto a gestação parecem influenciar nesta ação pró-oxidante.

Deste modo, entre as gestantes não infectadas, os achados relacionados à maior carbonilação, principalmente no pré-parto, sugerem que este intenso desequilíbrio oxidativo ocorra de forma transitória, restringindo-se a este período. Li *et al* .<sup>178</sup> relataram maior carbonilação em gestantes diabéticas, nos primeiro e terceiro trimestres gestacionais. Outros fatores também podem influenciar no estado *redox*, como a anemia, que é muito comum em gestantes. Tiwari *et al* .<sup>179</sup> observaram que o aumento da peroxidação lipídica e de proteínas pode levar ao maior risco de complicações gestacionais.

Ao se considerar apenas a infecção pelo HIV, nossos resultados de maior carbonilação e menores atividades de SOD e CAT apresentados pelas mulheres infectadas é corroborado por outros estudos que evidenciaram maior estresse oxidativo nesta população, em relação às pessoas não infectadas, o que é reflexo tanto da própria ação do vírus<sup>180</sup> quanto da TARV<sup>150,153,181</sup>.

O MDA tem sido o principal produto para estimar a peroxidação lipídica celular<sup>176</sup>. No presente estudo e considerando apenas as gestantes, foi observada maior concentração de MDA naquelas infectadas pelo HIV em relação às não infectadas. E, ao considerar todas as infectadas, as gestantes demonstraram maiores níveis de MDA do que as não gestantes. Estes achados sugerem que tanto a infecção quanto a gestação, e principalmente os dois fatores associados, promovem maior peroxidação lipídica. Entretanto, nas mulheres não grávidas, o maior estresse oxidativo das HIV+ pode ser resultante das altas concentrações de proteínas carboniladas encontradas, e não do MDA, pois este último não foi alterado na presença de infecção.

Em estudo com gestantes saudáveis conduzido por Yüksel & Yiğit<sup>174</sup>, concentrações de MDA estiveram elevadas no primeiro trimestre gestacional. Além disso, Anderson *et al*.<sup>182</sup>, demonstraram

que altos níveis de MDA influenciaram no baixo peso de neonatos nascidos de mães HIV+, comparadas às mães HIV-.

Para as mudanças observadas em SOD, a infecção foi mais evidente frente a atividade desta enzima do que a gestação em todas as mulheres infectadas pelo HIV. Estas, também apresentaram maior atividade de catalase do que as não infectadas, mas esta atividade foi diminuída quando estas mulheres estavam no período gestacional. No entanto, ambos os fatores infecção e gestação parecem influenciar na atividade de catalase.

Para carbonilação, gestantes HIV- e não gestantes HIV+ apresentaram níveis mais elevados, mostrando que ambos os fatores também estão relacionados com maior oxidação e modificação de proteínas. Ademais, tanto a infecção quanto a gestação aumentaram o peroxidação lipídica aferida pelo MDA. Vale ressaltar que a análise do estresse oxidativo no período gestacional é importante, pois seu aumento pode estar relacionado tanto ao parto prematuro<sup>183</sup>, quanto à disfunção endotelial em mulheres pré-eclâmpicas<sup>177,184</sup>, entre outras complicações obstétricas<sup>175</sup>.

A translocação microbiana é um mecanismo bem estabelecido em PVHA<sup>45</sup>, embora estruturas e compartimentos celulares envolvidos ainda estão sendo investigados. Além disso, a translocação relacionada à gestação e à infecção pelo HIV permanece um desafio à comunidade acadêmica, devido às implicações durante a gestação<sup>97</sup>, à complexa interação vírus-hospedeiro<sup>16</sup> e à disbiose<sup>185,186</sup>, que são passíveis de consequências imunológicas e fisiológicas ainda não compreendidas, tanto nas mulheres quanto em seus filhos.

Para avaliar a translocação microbiana, foi quantificada neste estudo a iFABP, recente biomarcador de dano epitelial, cuja presença na circulação sistêmica reflete a apoptose de enterócitos e, conseqüente perda da integridade estrutural do epitélio<sup>66,70</sup>. Uma das possíveis causas do dano epitelial intestinal na infecção pelo HIV deve-se à intensa depleção de linfócitos T CD4+<sup>45</sup>, a estruturas e mecanismos protetores prejudicados e à própria disbiose<sup>185,186</sup>, que também pode acelerar este processo. Vale ressaltar que a circulação sistêmica de iFABP ocorre independentemente da CV do indivíduo<sup>187,188</sup>.

O aumento da permeabilidade intestinal favorece a translocação microbiana do lúmen do intestino para a corrente sanguínea<sup>45,187</sup>. Para determinar a presença de produtos bacterianos circulantes, foram avaliados níveis de LPS, um glicolípido que compõe a estrutura celular de bactérias Gram-negativas<sup>67,68</sup> e que pode ser neutralizado por imunoglobulinas (IgG, IgA e IgM), determinadas EndoCab<sup>56,57</sup>. O LPS é um fator importante na ativação imune sistêmica<sup>59,69</sup>, cujo processo inicia-se pelo complexo LPS-sCD14, que interage com o TLR-4, ativando produção de citocinas inflamatórias. Esta condição inflamatória crônica tem sido relacionada ao envelhecimento precoce em indivíduos infectados pelo HIV<sup>54,55,79-81</sup>.

No presente estudo, a iFABP esteve aumentada em todas as mulheres infectadas pelo HIV, independentemente da gestação e, tanto no modelo longitudinal quanto fatorial. Neste último modelo, entre as infectadas, os níveis de iFABP no pré-parto foram ainda maiores nas gestantes do que nas não gestantes. Desse modo, é possível sugerir que o dano epitelial intestinal pode ser provocado pela infecção e intensificado no pré-parto. Estes resultados assemelham-se aos encontrados em outros estudos, que têm demonstrado aumento desta proteína em PVHA<sup>187,188</sup>. Estudos sobre a relação da gestação e infecção nos níveis de iFABP ainda são escassos. Shivakoti *et al* .<sup>134</sup> demonstraram que este aumento também esteve mais evidente em gestantes infectadas, o que apresentou forte relação com o parto prematuro, apesar de não avaliarem possíveis consequências para o neonato.

Ademais, analisando os níveis de LPS detectados em todas as mulheres, verificou-se que esta concentração nas infectadas provavelmente relacionou-se ao maior dano epitelial (iFABP). Entretanto, tal relação não foi observada naquelas não infectadas, já que nelas os níveis de iFABP não foram tão expressivos. A literatura já tem consolidado o fato da infecção promover maior translocação microbiana, o que já foi discutido anteriormente. No entanto, de acordo com os resultados do presente estudo, há possibilidade do fator “gestação” diminuir os níveis de LPS, o que ocorre apenas nas infectadas. Assim, os mecanismos que modulam estas diferentes respostas precisam ser melhor investigados.

Pelos modelos, longitudinal e fatorial, as mulheres não infectadas no pós-parto apresentaram maiores níveis de LPS, comparadas às infectadas no mesmo período. López *et al* .<sup>131</sup> analisaram as gestantes HIV+ e HIV- imediatamente após o parto e, não demonstraram diferenças nos níveis de LBP, um ligante dependente de LPS. Isso sugere que o aumento de LPS pode ocorrer posteriormente, ou seja, devido a outros fatores não relacionados à infecção ou gestação.

Nesse sentido, circulação sistêmica de LPS tem sido documentada através de alguns outros mecanismos que não são resultantes do dano epitelial. A translocação pode ocorrer pela internalização de LPS nos enterócitos e seu posterior transporte para a circulação<sup>189</sup> e/ou incorporação do LPS às partículas denominadas quilomícrons, durante a digestão de dietas hiperlipídicas<sup>190</sup>, culminando em estado inflamatório crônico<sup>59,69,190</sup>. A disbiose pós-parto relatada em gestações normais, como mencionadas por Mu *et al* .<sup>191</sup>, também seria outra possível explicação para os resultados encontrados no presente estudo.

No presente estudo, pelo modelo fatorial, a gestação diminuiu a ativação imune inferida pelo sCD14 em mulheres infectadas pelo HIV. No modelo longitudinal, essa ativação foi maior no primeiro trimestre da gestação, enquanto que as não infectadas não apresentaram alteração durante o período gestacional. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Mitchell *et al* .<sup>192</sup> e Lopez<sup>131</sup> *et al* . em gestantes infectadas pelo HIV, no entanto, esta ativação foi mais intensa no pré-parto, que culminou em parto prematuro. Em nosso estudo, além de não observarmos maior ativação imune no pré-parto, todos os partos foram a termo.

Hel *et al* .<sup>56</sup> mostraram que a dinâmica da resposta humoral em indivíduos infectados pelo HIV é prejudicada independentemente do tratamento, e que os níveis aumentados de IgM e diminuição de IgA e IgG permitem esclarecer o remodelamento da resposta imunológica que favorece maior translocação microbiana nestes indivíduos. No estudo aqui apresentado, foram mensurados níveis plasmáticos de EndoCAb. A concentração de IgG demonstrou sutil aumento no período gestacional de mulheres não infectadas comparadas às infectadas, apesar de não ter havido diferença estatística. Já no pós-parto, estes níveis foram elevados nas não infectadas, o que sugere que esta classe de

imunoglobulina não consegue neutralizar o LPS. Entretanto, apesar do presente estudo não avaliar a influência da continuidade de TARV nas participantes, sua adesão pode influenciar nos níveis de IgG, bem como de suas subclasses, conforme recente estudo realizado em gestantes HIV+ por Baroncelli *et al* .<sup>193</sup>.

A secreção de IgA exibe efeito anti-inflamatório<sup>194</sup> limita a adesão de microrganismos patogênicos no epitélio e dificulta a translocação microbiana. Foi sugerido por Gori *et al* .<sup>195</sup> que a secreção, atuação e especificidade da IgA está diretamente ligada à microbiota. Entre todas as HIV+ estudadas aqui, observamos menor concentração desta imunoglobulina durante a gestação e no pós-parto, do que as mulheres não gestantes. Isso mostra que o fator “gestação” na infecção está fortemente relacionado ao comprometimento na produção destes anticorpos, cuja resposta permaneceu até pelo menos três meses após o parto. A menor detecção de IgA em gestantes infectadas, pode sugerir intensa ligação deste anticorpo com endotoxinas luminais, pela possível disfunção endotelial decorrente da infecção pelo HIV, efeitos citotóxicos e distúrbios causados pela terapia e disbiose. Outro fato observado foi que em gestantes não infectadas o primeiro trimestre gestacional parece estimular a síntese da IgA, pois as infectadas já apresentavam este estímulo devido à própria infecção.

No decorrer da gestação das mulheres infectadas, no estudo longitudinal aqui apresentado, houve tendência ( $p=0,06$ ) ao aumento de IgM, enquanto Lopez *et al* .<sup>131</sup> não encontraram alterações. Outra condição observada, pelo modelo fatorial, foi no início da gestação, a menor concentração de IgM nas HIV+, comparadas às não gestantes, o que pode ter relação com o menor LPS também encontrado neste mesmo grupo, já que esta imunoglobulina tem alta afinidade por esse antígeno<sup>16</sup>. Assim, a gestação parece diminuir LPS, IgM e IgA, refletindo em menor ativação imune nas HIV+, pois, segundo Hel *et al* .<sup>56</sup>, níveis elevados de IgM contribuem para o maior dano epitelial e translocação microbiana.

Principalmente para Endocab, mais pesquisas são necessárias no intuito de esclarecer a influência da gestação, bem como da infecção pelo HIV, além de sua interação com outros parâmetros imunológicos e possíveis consequências.

## 6. CONCLUSÕES

Quanto ao estresse oxidativo, o fator infecção foi mais importante que o gestação para as mudanças observadas em SOD, cuja atividade foi mais evidente em todas as mulheres infectadas pelo HIV. Estas, também apresentaram maior atividade de CAT que as não infectadas, mas esta atividade foi diminuída quando estas mulheres estavam em período gestacional. Portanto, ambos os fatores infecção e gestação parecem influenciar na atividade desta enzima. Para carbonilação, gestantes HIV- e não gestantes HIV+ apresentaram níveis mais elevados, mostrando que ambos os fatores também estão relacionados com maior oxidação e modificação de proteínas, em contrapartida a peroxidação lipídica (MDA) foi mais intenso naquelas não grávidas.

Em relação à translocação microbiana, esta foi desencadeada pela gestação e infecção. A infecção promoveu intenso dano epitelial (iFABP) em infectadas, enquanto que a gestação intensificou este processo no pré-parto destas mulheres. Naquelas não infectadas, menores níveis de iFABP sugerem que LPS circulante possuiu baixa relação com o dano epitelial intestinal, indicando que outros componentes podem estar envolvidos neste processo. Por fim, a infecção promoveu maior translocação microbiana e ativação imune em infectadas pelo HIV, e a gestação por sua vez, diminuiu este último nestas mulheres, como visto pelo LPS, sCD14, IgM e IgA.

## 8. REFERÊNCIAS

1. UNAIDS, 2017. Global HIV Statistics.
2. Boletim Epidemiológico- AIDS e DST. Vol 49, nº 51. Ministério da Saúde, 2019.
3. Boletim Epidemiológico CRT-PE-DST/AIDS/CVE, Secretária de Estado da Saúde de São Paulo, nº 1, 2017.
4. Clapham PR, McKnight A. Cell surface receptors, virus entry and tropism of primate lentiviruses. *J Gen Virol*. 2002;83(8):1809-29.
5. Benveniste O1, Flahault A, Rollot F, Elbim C, Estaquier J, Pédrón B, et al. Mechanisms involved in the low-level regeneration of CD4+ cells in HIV-1-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy who have prolonged undetectable plasma vi.
6. CDC. Center for Diseases Control. Epidemiology notes and reports immunodeficiency among female sexual partners of males with acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1983;31(52):697-98.
7. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 1983;220(4599):868-71.
8. Gallo RC, Sarin PS, Gelmann EP, Robert-Guroff M, Richardson E, Kalyanaraman VS, et al. Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 1983;220(4599):865-7.
9. Freed EO. HIV-1 gag proteins: diverse functions in the virus life cycle. *Virology*. 1998;251(1):1-15.
10. Department of Energy's NNSA. The circulating recombinant forms (CRFs) [Internet]. Los Alamos National Laboratory. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov>>.
11. Peçanha EP, Antunes OAC, Tanuri A. Estratégias farmacológicas para a terapia anti-AIDS. *Química Nova*. 2002;25(6b):1108-16.
12. Oliveira AJ, Osti NM, Parise Filho R, Chorilli M. Novas abordagens no desenvolvimento de fármacos antirretrovirais. *Rev de la Organización de Farmacéuticos Ibero-Latino americanos*. 2009;19(1):42-56.
13. Piatak M Jr, Saag MS, Yang LC, Clark SJ, Kappes JC, Luk KC, et al. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science*. 1993; 259(5102):1749-54.
14. Vaishnav YN, Wong-Staal F. The Biochemistry of Aids. *Annu Ver Biochem*. 1991;60:577-630.
15. Quinn TC. Acute primary HIV infection. *JAMA*. 1997;278:58-62.
16. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia celular e molecular*. Elsevier, 8º Ed. 2015.
17. Mellors J, Rinaldo C, Gupta P, White RM, Todd JA, Kingsley LA. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science*. 1996;272(5265):1167-70.
18. Wu L, Kewal Ramani VN. Dendritic-cell interactions with HIV: infection and viral dissemination. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(11):859-68.
19. Koup RA, Safrit JT, Cao Y, Andrews CA, McLeod G, Borkowsky W, et al. Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *J Virol*. 1994;68:4650-5.
20. Schacker TH, Hughes JP, Shea T, Coombs RW, Corey L. Biological and virologic characteristics of primary HIV infection. *Ann Inter Med*. 1998;128(8):613-20.
21. Gaines H, Von Sydow MA, Von Stedingk LV, Biberfeld G, Böttiger B, Hansson LO, et al. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS*. 1990;4(10):995-9.
22. Weber B. Screening of HIV infection: role of molecular and immunological assays. *Expert Rev Mol Diagn*. 2006;6(3):399-411.
23. Brenchley JM, Price DA, Schacker TW, Asher TE, Silvestri G, Rao S, et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat Med*. 2006;12(12):1365-71.

24. Lederman, MM, Margolis L. The lymph node in HIV pathogenesis. *Semin Immunol.* 2008;20(3):187-95.
25. Badley AD, Pilon AA, Landay A, Lynch DH. Mechanism of HIV associated lymphocyte apoptosis. *Blood.* 2000;96(9):2951-64.
26. Forsman A, Weiss RA. Why is HIV a pathogen? *Trends Microbiol.* 2008;16(12):555-60.
27. Marteens G, Celum C, Lewin SR. *Lancet.* 2014;19(384):258-71.
28. Gandhi RT, Walker BD. Immunogenic control of HIV-1. *Ann Rev Med.* 2002;53:149-72.
29. Migueles SA, Laborico AC, Shupert WL, Sabbaghian MS, Rabin R, Hallahan CW, et al. HIV-specific CD8 T cell proliferation is coupled to perforin expression and is maintained in nonprogressors. *Nat Immunol.* 2002;3:1061–8.
30. World Health Organization. Global Update On The Health Sector Response to HIV. Geneva: Who Library, 2014.
31. Fischl MA, Richman DD, Grieco MH, Gottlieb MS, Volberding PA, Laskin OL, et al. The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med.* 1987;317(4):185-9.
32. Deeks S, Sharon R Lewin, Diane V Havlir. The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease. *Lancet.* 2013;382:1525–33.
33. Fidler S, et al. Primary HIV infection: to treat or not to treat? *Curr Opin Infect Dis.* 2008;21:4-10.
34. Pereira CCA, Machado CJ, Rodrigues RN. Perfis de causas múltiplas de morte relacionadas ao HIV/AIDS nos municípios de São Paulo e Santos, Brasil, 2001. *Cad Saúde Pública.* 2007;23(3):645-55.
35. Hasse B, et al. Aging and Non-HIV-associated Co-morbidity in HIV+ Persons: The SHCS - 18th Conf on Retroviruses and Opportunist Infection, Paper 79, 2011. Disponível em: [www.retroconference.org/2011/Abstracts/40790.htm](http://www.retroconference.org/2011/Abstracts/40790.htm).
36. Guaraldi G, et al. Prevalence of Poly-pathology Is More Common in HIV-infected Patients than in HIV-negative Controls in Any Age Strata - 17th Conference on Retroviruses and Opportunist Infection, Paper 792-2010. Disponível em: [retroconference.org/2010/Ab](http://retroconference.org/2010/Ab).
37. Crum-Cianflone N, et al. Prevalence and Factors Associated with Renal Dysfunction Among HIV Infected Patients. *AIDS Patient Care STDS* 2010; 24:353.
38. Deeks S. HIV Infection, Inflammation, Immuno-senescence, and Aging. *Ann Rev Med.* 2011;62:141.
39. Lupp C, Robertson ML, Wickham ME, Sekirov I, Champion OL, Gaynor EC, et al. Host-Mediated Inflammation Disrupts the Intestinal Microbiota and Promotes the Overgrowth of Enterobacteriaceae. *Cell Host Microbe.* 2007;(2)119–129.
40. O’Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep.* 2006;7:688–93.
41. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One.* 2010;5(2):e9085.
42. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature.* 2006; 444:1027-31.
43. Huffnagle GB. The microbiota and allergies/asthma. *PLoS Pathog.* 2010; 6:e1000549.
44. Ribeiro ABDM, Heimesaat MM, Bereswill S. Changes of the intestinal microbiome–host homeostasis in hiv-infected individuals – a focus on the bacterial gut microbiome. *Eur Jour Micro Imm.* 2017; (3)158–67.
45. Hooper LV. Epithelial cell contributions to intestinal immunity. *Adv Immunol.* 2015;(126)129-72.
46. Johansson MEV, Phillipson M, Petersson J, Velcich A, Holm L, Hansson GC. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2008;(105):150.
47. Clevers HC, Bevins CL. Paneth cells: Maestros of the small intestinal crypts. *An Rev Physiol.*

- 2013;(75)289–311.
48. Sternini C, Anselmi L, Rozengurt E. Enteroendocrine cells: A site of “taste” in gastrointestinal chemosensing. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2008;(15):73–78.
  49. Tahoun A, Mahajan S, Paxton E, Malterer G, Donaldson DS, Wang D, et al. Salmonella transforms follicle-associated epithelial cells into Mcells to promote intestinal invasion. *Cell Host Microbe.* 2012;(12):645-56.
  50. Muniz LR, Knosp C, Yeretssian G. Intestinal antimicrobial peptides during homeostasis, infection and disease. *Front Immunol.* 2012;3(310):1-13.
  51. Siedner MJ, Zanni M, Tracy RP, Kwon DS, Tsai AC, Kakuhire B, et al. Increased Systemic Inflammation and Gut Permeability Among Women With Treated HIV Infection in Rural Uganda. *J Infect Dis.* 2018;(6):218922-6.
  52. Vallejo A, Molano MdC, Monsalvo M, Hernandez F, Fontecha F, Casado JL. Switching to dual antiretroviral regimens is associated with improvement or no changes in activation and inflammation markers in virologically suppressed HIV-1-infected patients. *HIV Med.* 2019;20(8):555-560.
  53. Volpe GE, Ward H, Mwamburi M, Dinh D, Bhalchandra S, Wanke C, et al. Associations of Cocaine Use and HIV Infection with the Intestinal Microbiota, Microbial Translocation, and Inflammation. *J Stud Alcohol Drugs.* 2014;75(2):347-57.
  54. Ancuta P, Kamat A, Kunstman K, Kim E, Autissier P, Wurcel A, et al. Microbial translocation is associated with increased monocyte activation and dementia in AIDS patients. *PLoS ONE.* 2008;3:e2516.
  55. Sun J, Zheng J, Zhao M, Lee S, Goldstein H. Increased in vivo activation of microglia and astrocytes in the brains of mice transgenic for an infectious R5 human immunodeficiency virus type 1 provirus and for CD4-specific expression of human cyclin T1. *J Virol.* 2008;82(11):5562-5572.
  56. Hel Z, Xu J, Denning WL, Helton ES, Huijbregts RP, Heath SL, et al. Dysregulation of Systemic and Mucosal Humoral Responses to Microbial and Food Antigens as a Factor Contributing to Microbial Translocation and Chronic Inflammation in HIV-1 Infection. *PLoS Pathog.* 2017;13(1):e1006087.
  57. Vaure C, Liu Y. A comparative review of toll-like receptor 4 expression and functionality in diferente animal species. *Front Immunol.* 2014;5(316):1-15.
  58. Klatt NR, Funderburg NT, Brenchley JM. Microbial translocation, immune activation and HIV disease. *Trends Microbiol.* 2013;21(1):6–13.
  59. Ramendra R, Isnard S, Mehraj V, Chen J, Zhang Y, Finkelman M, et al. Circulating LPS and (1-3) $\beta$ -D-glucan: a folie à deux contributing to HIV- associated immune activation. *Front Immunol.* 2019;10:465.
  60. Stiksrud B, Nowak P, Nwosu F, Kvale D, Thalme, Sonnerborg A, et al. Reduced Levels of D-dimer and Changes in Gut Microbiota Composition After Probiotic Intervention in HIV-Infected Individuals on Stable ART. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2015;70(4):329-37.
  61. Mosepele M, Mohammed T, Mupfumi L, Moyo S, Bennett K, Lockman S, et al. HIV disease is associated with increased biomarkers of endothelial dysfunction despite viral suppression on long-term antiretroviral therapy in Botswana. *Cardiovasc J Afr.* 2018;29(3):155-161.
  62. Marchetti G., Tincati C., Silvestri G. Microbial translocation in the pathogenesis of HIV infection and AIDS. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(1):2-18.
  63. Marchetti G, Cozzi-Lepri A, Tincati C, Calcagno A, Ceccherini-Silberstein F, De Luca A, et al. Immune activation and microbial translocation in liver disease progression in HIV/hepatitis co-infected patients: results from the Icona Foundation study. *BMC Infect Dis.* 2014;14:79.
  64. Santos-Oliveira JR, Regis EG, Giacoia-Gripp CB, Valverde JG, Alexandrino-de-Oliveira P, Lindoso JÂ, et al. Microbial Translocation Induces an Intense Proinflammatory Response in Patients With Visceral Leishmaniasis and HIV Type 1 Coinfection. *J Infect Dis.* 2013;208(1):57-66.
  65. Toossi Z, Funderburg NT, Sirdeshmuk S, Whalen CC, Nanteza MW, Johnson DF, et al.

- Systemic Immune Activation and Microbial Translocation in Dual HIV/Tuberculosis-Infected Subjects. *J Infect Dis.* 2013;207(12):1841-9.
66. Vesterbacka J, Barqasho B, Hggblom A, Nowak P. Effects of Co-Trimoxazole on Microbial Translocation in HIV-1-Infected Patients Initiating Antiretroviral Therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2015;31(8):830-6.
  67. Caradonna L, Amati L, Magrone T, Pellegrino NM, Jirillo E, Caccavo D. Enteric bacteria, lipopolysaccharides and related cytokines in inflammatory bowel disease: biological and clinical significance. *J Endotoxin Res.* 2000;6(3):205-14.
  68. Schietroma M, Carlei F, Cappelli S, Amicucci G. Intestinal permeability and systemic endotoxemia after laparotomic or laparoscopic cholecystectomy. *Ann Surg.* 2006;243(3):359-63.
  69. Vassallo M, Mercié P, Cottalorda J, Ticchioni M, Dellamonica P. The role of lipopolysaccharide as a marker of immune activation in HIV-1 infected patients: a systematic literature review. *Virology.* 2012;9:174.
  70. Sandler NG, Wand H, Roque A, Law M, Nason MC, Nixon DE, et al. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. *J Infect Dis.* 2011;203(6):780-90.
  71. Vassileva G, Huwyler L, Poirier K, Agellon LB, Toth MJ. The intestinal fatty acid binding protein is not essential for dietary fat absorption in mice. *FASEB J.* 2000;14(13):2040-6.
  72. El Kamari V, Sattar A, Mccomsey GA. Brief Report: Gut Structural Damage: an Ongoing Process in Chronically Untreated HIV Infection. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2019;80(2):242-5.
  73. Vujkovic-Cvijin I, Dunham RM, Iwai S, Maher MC, Albright RG, Broadhurst MJ, et al. Dysbiosis of the gut microbiota is associated with HIV disease progression and tryptophan catabolism. *Sci Transl Med.* 2013;5(193):193ra91.
  74. Favre D, Mold J, Hunt PW, Kanwar B, Loke P, Seu L, et al. Tryptophan catabolism by indoleamine 2,3-dioxygenase 1 alters the balance of TH17 to regulatory T cells in HIV disease. 2010;2(32):32ra36.
  75. Mehraj V, Ramendra R, Isnard S, Dupuy FP, Ponte R, Chen J, et al. Circulating (1→3)-β-D-glucan Is Associated With Immune Activation During Human Immunodeficiency Virus Infection. *Clin Infect Dis.* 2020;70(2):232-41.
  76. Jenabian MA, El-Far M, Vyboh K, Kema I, Costiniuk CT, Thomas R, et al. Montreal primary, and G slow progressor study, immunosuppressive tryptophan catabolism and gut mucosal dysfunction following early HIV infection. *J Infect Dis.* 2015;212:355–66.
  77. Jenabian MA, Patel M, Kema I, Kanagaratham C, Radzioch D, Thebault P, et al. Distinct tryptophan catabolism and Th17/Treg balance in HIV progressors and elite controllers. *PLoS ONE.* 2013; 8:e78146.
  78. Chen J, Xun J, Yang J, Ji Y, Liu L, Qi T, et al. Plasma indoleamine 2,3-dioxygenase activity is associated with the size of HIV reservoir in patients receiving antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis.* 2019;68(8):1274-81.
  79. Brenchley JM, Price DA, Douek DC. HIV disease: fallout from a mucosal catastrophe? *Nat Immunol.* 2006;7(3):235-9.
  80. Funderburg N, Mayne E, Sieg S, Asaad R, Jiang W, Kalinowska M, et al. Increased tissue factor expression on circulating monocytes in chronic HIV infection: relationship to in vivo coagulation and immune activation. *Am Soc Hematology.* 2010;115(2):161-7.
  81. Mullerat J, Perrett CW, Deroide F, Winslet MC, Bofill M, Poulter LW. The role of macrophages in angiogenesis. Comparison between HIV+ and HIV- populations with anal dysplasia and anal cancer. *Anticancer Res.* 2005;25(2A):693-9.
  82. Hensley-McBain T, Berard AR, Manuzak JA, Miller CJ, Zevin AS, Polacino P, et al. Intestinal damage precedes mucosal immune dysfunction in SIV infection. *Mucosal Immunol.* 2018;11:1429–40.
  83. Wang H, Kotler DP. HIV enteropathy and aging: gastrointestinal immunity, mucosal epithelial barrier, and microbial translocation. *Curr Opin HIV AIDS.* 2014;9:309–16.

84. Cohen O, Weissman D, Fauci AS. The Immunopathogenesis of HIV Infection. In: Paul WE, editor. *Fundamental Immunology*. Fourth Edition ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers. 1999; p.1455-509.
85. Muñoz-Fernández MA, Navarro J, Garcia A, Punzón C, Fernández E, Fresno M. Replication of human immunodeficiency virus-1 in primary human T cells is dependent on the autocrine secretion of tumor necrosis factor through the control of nuclear factor-kappa B. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;100(6 pt 1):838-845.
86. Freudenberg MA, Tchantchet S, Keck S, Fejer G, Huber M, Schutze N, et al. Lipopolysaccharide sensing an important factor in the innate immune response to Gram-negative bacterial infections: benefits and hazards of LPS hypersensitivity. *Immunobiology*. 2008.
87. Poccia F, Boullier S, Lecoeur H, Cochet M, Poquet Y, Collizzi V, et al. Peripheral V gamma 9/V delta 2 T cell deletion and anergy to nonpeptidic mycobacterial antigens in asymptomatic HIV-1-infected persons. *J Immunol*. 1996;157(1):449-61.
88. Haynes BF, Hale LP, Weinhold KJ, Patel DD, Liao HX, Bressler PB, et al. Analysis of the adult thymus in reconstitution of T lymphocytes in HIV-1 infection. *J Clin Invest*. 1999;103(4):453-60.
89. Wallet MA, Rodriguez KA, Yin L, et al. Microbial translocation induces persistent macrophage activation unrelated to HIV-1 levels or T cell activation following therapy. *AIDS*. 2010;24(9):1281-90.
90. Chiodini RJ, Dowd SE, Barron JN, Galandiuk S, Davis B, Glassing A. Transitional and temporal changes in the mucosal and submucosal intestinal microbiota in advanced Crohn's disease of the terminal ileum. *J Med Microbiol*. 2018;67(4):549-59.
91. Liu Y, Van Kruiningen HJ, West AB, Cartun RW, Cortot A, Colombel JF. Immunocytochemical evidence of *Listeria*, *Escherichia coli*, and *Streptococcus* antigens in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1995; 108(5):1396-04.
92. Cicalese L, Billiar TR, Rao AS, Bauer AJ. Interaction between ischemia/reperfusion-induced leukocyte emigration and translocating bacterial enterotoxins on enteric muscle function. *Transplant Proc*. 1997;29(3):1815.
93. Vaishnavi C. Translocation of gut flora and its role in sepsis. *Indian J Med Microbiol*. 2013; 31(4):334-42.
94. Sorkine P, Szold O, Halpern P, Gutman M, Gremland M, Rudick V, et al. Gut decontamination reduces bowel ischemia-induced lung injury in rats. *Chest*. 1997;112(2):491-5.
95. Souza DG, Vieira AT, Soares AC, Pinho V, Nicoli JR, Vieira LQ, et al. The essential role of the intestinal microbiota in facilitating acute inflammatory responses. *J Immunol*. 2004;173(6):4137-46.
96. Cooke KR, Olkiewicz K, Erickson N, Ferrara JL. The role of endotoxin and the innate immune response in the pathophysiology of acute graft versus host disease. *J Endotoxin Res*. 2002;8(6):441-8.
97. Chaouat G. The Th1/Th2 paradigm: still important in pregnancy? *Semin Immunopathol*. 2007;29(2):95-113.
98. Makhseed M, Raghupathy R, El-Shazly S, Azizieh F, Al-Harmi JA, Al-Azemi MM. Pro-inflammatory maternal cytokine profile in preterm delivery. *Am J Reprod Immunol*. 2003;49(5):308-18.
99. El-Shazly S, Makhseed M, Azizieh F, Raghupathy R. Increased expression of pro-inflammatory cytokines in placentas of women undergoing spontaneous preterm delivery or premature rupture of membranes. *Am J Reprod Immunol*. 2004;52(1):45-52.
100. Arntzen KJ, Lien E, Austgulen R. Maternal serum levels of interleukin-6 and clinical characteristics of normal delivery at term. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1997;76(1):55-60.
101. Kumazaki K, Nakayama M, Yanagihara I, Suehara N, Wada Y. Immunohistochemical distribution of Toll-like receptor 4 in term and preterm human placentas from normal and

- complicated pregnancy including chorioamnionitis. *Hum Pathol.* 2004;35(1):47-54.
102. von Dadelszen P, Watson RW, Noorwali F, Marshall JC, Parodo J, Farine D, et al. Maternal neutrophil apoptosis in normal pregnancy, preeclampsia, and normotensive intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181(2):408-14.
  103. Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 2010;63(6):601-10.
  104. Peck A, Mellins ED. Plasticity of T-cell phenotype and function: the T helper type 17 example. *Immunology.* 2010;129(2):147-53.
  105. Gustafsson C, Hummerdal P, Matthiesen L, Berg G, Ekerfelt C, Ernerudh J. Cytokine secretion in decidual mononuclear cells from term human pregnancy with or without labour: ELISPOT detection of IFN-gamma, IL-4, IL-10, TGF-beta and TNF-alpha. *J Reprod Immunol.* 2006;71(1):41-56.
  106. Dudley DJ, Collmer D, Mitchell MD, Trautman MS. Inflammatory cytokine mRNA in human gestational tissues: implications for term and preterm labor. *J Soc Gynecol Investig.* 1996;3(6):328-35.
  107. Mor G. Inflammation and pregnancy: the role of toll-like receptors in trophoblast-immune interaction. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 Apr;1127:121-8.
  108. Donders GG, Vereecken A, Bosmans E, Spitz B. Vaginal cytokines in normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189(5):1433-8.
  109. Houben ML, Nikkels PG, van Bleek GM, Visser GH, Rovers MM, Kessel H, et al. The association between intrauterine inflammation and spontaneous vaginal delivery at term: a cross-sectional study. *PLoS One.* 2009;4:e6572.
  110. Stringer E, Antonsen E. Hormonal contraception and HIV disease progression. *Clin Infect Dis.* 2008;47(7):945-51.
  111. Tibbetts TA, Conneely OM, O'Malley BW. Progesterone via its receptor antagonizes the pro-inflammatory activity of estrogen in the mouse uterus. *Biol Reprod.* 1999;60(5):1158-65.
  112. Mesiano S. Myometrial progesterone responsiveness and the control of human parturition. *J Soc Gynecol Investig.* 2004;11(4):193-202.
  113. Velders M, Schleipen B, Fritzemeier KH, Zierau O, Diel P. Selective estrogen receptor-beta activation stimulates skeletal muscle growth and regeneration. *FASEB J.* 2012;26(5):1909-20.
  114. Bird MD, Karavitis J, Kovacs EJ. Sex differences and estrogen modulation of the cellular immune response after injury. *Cell Immunol.* 2008;252(1-2):57-67.
  115. Hillier SL, Lau RJ. Vaginal microflora in postmenopausal women who have not received estrogen replacement therapy. *Clin Infect Dis* 1997;25 Suppl 2:S123-6.
  116. Hel Z, Stringer E, Mestecky J. Sex Steroid Hormones, Hormonal Contraception, and the Immunobiology of Human Immunodeficiency Virus-1 Infection. *Endrocr Rev.* 2010;31(1):79-97.
  117. Balogun KA, Guzman Lenis MS, Papp E, Loutfy M, Yudin MH, MacGillivray J, et al. Elevated Levels of Estradiol in Human Immunodeficiency Virus-Infected Pregnant Women on Protease Inhibitor-Based Regimens. *Clin Infect Dis.* 2018;66(3):420-7.
  118. Katagiri D, Hayashi H, Victoriano AF, Okamoto T, Onozaki K. Estrogen stimulates transcription of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). *Int Immunopharmacol.* 2006;6(2):170-81.
  119. Rodriguez-Garcia M, Biswas N, Patel MV, Barr FD, Crist SG, Ochsenbauer C, et al. Estradiol reduces susceptibility of CD4+ T cells and macrophages to HIV-infection. *PLoS One.* 2013;8(4):e62069.
  120. Whitacre CC, Reingold SC, O'Looney PA. A gender gap in autoimmunity. *Science.* 1999;283(5406):1277-8.
  121. Correale J, Arias M, Gilmore W. Steroid hormone regulation of cytokine secretion by proteolipid protein-specific CD4+ T cell clones isolated from multiple sclerosis patients and normal control subjects. *J Immunol.* 1998;161(7):3365-74.
  122. Enomoto LM, Klobberdanz KJ, Mack DG, Elizabeth D, Weinberg A. Ex vivo effect of estrogen

- and progesterone compared with dexamethasone on cell-mediated immunity of HIV-infected and uninfected subjects. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007;45(2):137-43.
123. Ragupathy V, Xue W, Tan Li, Devadas K, Gao Y, Hewlett I. Progesterone augments cell susceptibility to HIV-1 and HIV-1/HSV-2 co-infections. *J Mol Endocr*. 2016;57(3):185-99.
  124. Grishina I, Fenton A, Walters SS. Gender Differences, Aging and Hormonal Status in Mucosal Injury and Repair. *Aging Dis*. 2014;5(2):160-69.
  125. Zhoua Z, Powellb AM, Ramakrishnanc V, Eckardd A, Wagnerd C, Jianga W. Elevated systemic microbial translocation in pregnant HIV-infected women compared to HIV-uninfected women, and its inverse correlations with plasma progesterone levels. *J Reprod Immunol*. 2018;127:16-18.
  126. Herr D, Fraser HM, Konrad R, Holzheu I, Kreienberg R, Wulff C. Human chorionic gonadotropin controls luteal vascular permeability via vascular endothelial growth factor by down-regulation of a cascade of adhesion proteins. *Fertil Steril*. 2013;99(6):1749-5.
  127. Kuruca SE, Karadenizli S, Akgun-Dar K, Kapucu A, Kaptan Z, Uzum G. The effects of 17 $\beta$ -estradiol on blood brain barrier integrity in the absence of the estrogen receptor alpha; an in-vitro model. *Acta Histochem*. 2017;119(6):638-47.
  128. Zhou Z, Zhang L, Ding M, Luo Z, Yuan S, Bansal M, et al. Estrogen decreases tight junction protein ZO-1 expression in human primary gut tissues. *Clin Immunol*. 2017;183:174-180.
  129. Manfio VM, Tasca KI, Gatto M, da Silva VL, Golim MA, Souza LR. HIV-Infected Pregnant Women: A Microbial Translocation and Inflammatory Status Discussion. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2019;35(3):217-8.
  130. Richardson K, Weinberg A. Dynamics of regulatory T-cells during pregnancy: effect of HIV infection and correlations with other immune parameters. *Plos One*. 2011;6(11):e2817.
  131. López M, Figueras F, Coll O, Goncé A, Hernández S, Loncá M, et al. Inflammatory Markers Related to Microbial Translocation Among HIV-Infected Pregnant Women: A Risk Factor of Preterm Delivery. *J Infect Dis*. 2016;213(3):343-50.
  132. Espinoza J, Chaiworapongsa T, Romero R, Gomez R, Kim JC, Yoshimatsu J, et al. Evidence of participation of soluble CD14 in the host response to microbial invasion of the amniotic cavity and intra-amniotic inflammation in term and preterm gestations. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2002;12(5):304-312.
  133. Gardella C, Hitti J, Martin TR, Ruzinski JT, Eschenbach D. Amniotic fluid lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 as mediators of the inflammatory response in preterm labor. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;184(6):1241-8.
  134. Shivakoti R, Gupte N, Kumar NP, Kulkarni V, Balasubramanian U, Bhosale R, et al. Intestinal barrier dysfunction and microbial translocation in human immunodeficiency virus-infected pregnant women are associated with preterm birth. *Clin Infect Dis*. 2018;67.
  135. Kourtis AP, Ibegbu CC, Wiener J, King CC, Tegha G, Kamwendo D, et al. Role of intestinal mucosal integrity in HIV transmission to infants through breast-feeding: the BAN study. *J Infect Dis*. 2013;208(4):653-61.
  136. Calvert C, Ronsmans C. Pregnancy and HIV disease progression: a systematic review and meta-analysis. *Trop Med Int Health*. 2015;20(2):122-45.
  137. Lathrop E, Jamieson D, Danel I. HIV and maternal mortality. *Int J Gynaecol Obstet*. 2014;127(2):213-5.
  138. Lieve Vd, Shafer LA, Mayanja BN, Whitworth JA, Grosskurth H. Effect of pregnancy on HIV disease progression and survival among women in rural Uganda. *Trop Med Int Health*. 2007;12(8):920-8.
  139. Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*. 2006;8(9-10):1865-79.
  140. Jacob KD, Noren Hooten N, Trzeciak AR, Evans MK. Markers of oxidant stress that are clinically relevant in aging and age-related disease. *Mech Ageing Dev*. 2013;134(3-4):139-57.
  141. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol*. 2002;30(6):620-50.

142. Mayne ST. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *Nutr.* 2003;133 Suppl 3:933S-940S.
143. González-Blanco I, Calás-Hechavarría V, Gravier-Hernández R, Pérez-Correa D, Reyes-Pérez A, Hernández-Requejón D. Oxidant/antioxidant status in subjects with HIV infection in different clinical conditions. *Biomed Aging Pathol.* 2014;4(3):235-42.
144. Sharma B. Oxidative stress in HIV patients receiving antiretroviral therapy. *Curr HIV Res.* 2014;12(1):13-21.
145. Tasca KI, Caleffi JT, Correa CR, Gatto M, Tavares FC, Camargo CC, Sartori A, Biasin M, de Souza LDR. Antiretroviral Therapy Initiation Alters the Redox System of Asymptomatic HIV-Infected Individuals: A Longitudinal Study. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:9834803.
146. Delmas MC, Peuchant E, Couchouron A, Constans J, Sergeant C, Simonoff M, et al. The enzymatic antioxidant system in blood and glutathione status in human immunodeficiency virus-infected patients: effects of supplementation with selenium or beta-carotene. *Am J Clin Nutr.* 1996;64(1):101-107.
147. Suresh DR, Annam V, Pratibha K, Prasad BV. Total antioxidant capacity-a novel early biochemical marker of oxidative stress in HIV infected individuals. *J Biomed Sci.* 2009;16:61.
148. Bilbis LS, Idowu DB, Saidu Y, Lawal M, Njoku CH. Serum levels of antioxidant vitamins and mineral elements of human immunodeficiency virus positive subjects in Sokoto, Nigeria. *Ann Afr Med.* 2010; 9(4):235-9.
149. Drain PK, Kupka R, Mugusi F, Fawzi WW. Micronutrients in HIV-positive persons receiving highly active antiretroviral therapy. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(2):333-45.
150. Hulgan T, Morrow J, D'Aquila RT, Raffanti S, Morgan M, Rebeiro P, et al. Oxidant stress is increased during treatment of human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis.* 2003;37(12):1711-7.
151. Ivanov AV, Valuev-Elliston VT, Ivanova ON, Kochetkov SN, Starodubova ES, Bartosch B, et al. Oxidative Stress during HIV Infection: Mechanisms and Consequences. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:8910396.
152. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996;239(1):70-6.
153. Ngondi JL, Oben J, Forkah DM, Etame LH, Mbanya D. The effect of different combination therapies on oxidative stress markers in HIV infected patients in Cameroon. *AIDS Res Ther.* 2006;3:19.
154. Gil L, Martínez G, González I, Tarinas A, Alvarez A, Giuliani A, et al. Contribution to characterization of oxidative stress in HIV/AIDS patients. *Pharmacol Res.* 2003;47(3):217-24.
155. de Andrade Ramos BR, Witkin SS. The influence of oxidative stress and autophagy cross regulation on pregnancy outcome. *Cell Stress Chaperones.* 2016;21(5):755-62.
156. Basu J, Bendek B, Agamasu E, Salafia AM, Mishra A, Benfield N, et al. Placental Oxidative Status throughout Normal Gestation in Women with Uncomplicated Pregnancies. *Obstet Gynecol Int.* 2015;2015:276095.
157. Mert I, Oruc AS, Yuksel S, Cakar ES, Buyukkagnıcı U, Karaer A, et al. Role of oxidative stress in preeclampsia and intrauterine growth restriction. *J Obstet Gynaecol Res.* 2012;38(4):658-64.
158. Ramiro-Cortijo D, Herrera T, Rodríguez-Rodríguez P, López De Pablo AL, De La Calle M, López-Giménez MR, et al. Maternal plasma antioxidant status in the first trimester of pregnancy and development of obstetric complications. *Placenta.* 2016;47:37-45.
159. Hernández S, Catalán M, Morén C, García-Otero L, López M, Guitart-Mampel M, et al. Placental Mitochondrial Toxicity, Oxidative Stress, Apoptosis, and Adverse Perinatal Outcomes in HIV Pregnancies Under Antiretroviral Treatment Containing Zidovudine. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2017;75(4):e113-e119.
160. Schoeman JC, Moutloatse GP, Harms AC, Vreeken RJ, Scherpbier HJ, Van Leeuwen L, et al. Fetal Metabolic Stress Disrupts Immune Homeostasis and Induces Proinflammatory Responses in Human Immunodeficiency Virus Type 1- and Combination Antiretroviral

- Therapy. *J Infect Dis.* 2017;216(4):436-446.
161. Samarghandian S, Farkhondeh T, Samini F, Borji A. Protective Effects of Carvacrol against Oxidative Stress Induced by Chronic Stress in Rat's Brain, Liver, and Kidney. *Biochem Res Int.* 2016;2016:2645237.
  162. Mesquita CS, Oliveira R, Bento F, Geraldo D, Rodrigues JV, Marcos JC. Simplified 2,4-dinitrophenylhydrazine spectrophotometric assay for quantification of carbonyls in oxidized proteins. *Anal Biochem.* 2014;458:69-71.
  163. Crouch RK, Goletz P, Snyder A, Coles WH. Antioxidant enzymes in human tears. *J Ocul Pharmacol.* 1991;7(3):253-8.
  164. Bergmeyer H. AEBI, H. Catalase. In: Bergmeyer H.U., editor. *Methods of enzymatic analysis* Academic. New York: Academic Press; 1974, p. 673-677. *New York Acad Press.* 1974:1974.
  165. BRASIL, Ministerio da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST Aids e Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em adultos. Brasília: Ministerio da Saúde; 2018. <http://www.aids.gov>.
  166. BRASIL, Ministerio da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST Aids e Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Prevenção da Transmissão Vertical de HIV, Sífilis e Hepatites. 1a edição. 2015.
  167. Aquaro S, Scopelliti F, Pollicita M, Perno CF. Oxidative Stress and HIV Infection: Target Pathways for Novel Therapies? *Future HIV Therapy.* 2008;2(4):327-38.
  168. Mandas A, Iorio EL, Congiu MG, Balestrieri C, Mereu A, Cau D, et al. Oxidative imbalance in HIV-1 infected patients treated with antiretroviral therapy. *J Biomed Biotechnol.* 2009;2009:749575.
  169. Gupta S, Agarwal A, Sharma RK. The role of placental oxidative stress and lipid peroxidation in preeclampsia. *Obstet Gynecol Surv.* 2005;60(12):807-16.
  170. Herrero-Mercado M, Waliszewski SM, Caba M, Martínez-Valenzuela C, Gómez Arroyo S, Villalobos Pietrini R, et al. Organochlorine pesticide gradient levels among maternal adipose tissue, maternal blood serum and umbilical blood serum. *Bull Env Contam Toxicol.* 2011;289(3):289-293.
  171. Stark MJ, Clifton VL, Hodyl NA. Differential effects of docosahexaenoic acid on preterm and term placental pro-oxidant/antioxidant balance. *Reproduction.* 2013;146(3):243-51.
  172. Ibeh BO, Obidoa O, Uzoegwu PN. High plasma activity of endogenous antioxidants protect CD4+ T-cells in HIV-serodiscordant heterosexual partners in a Nigerian population. *Int J STD AIDS.* 2008;19(8):536-40.
  173. Osuji FN, Onyenekwe, CC, Ahaneku JE, Nkiruka RU. The Effects of Highly Active Antiretroviral Therapy on the Levels of Superoxide Dismutase, Catalase and C-Reactive Protein in HIV Infected Subjects in Nigeria. *J Biomed Sci.* 2018;3(6)53-9.
  174. Yüksel S, Yiğit AA. Malondialdehyde and nitric oxide levels and catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase levels in maternal blood during different trimesters of pregnancy and in the cord blood of newborns. *Turk J Med Sci.* 2015;45(2):454-.
  175. de Lucca L, Jantsch LB, Vendrame SA, Stein CDS, Klein VCG, Soares KB, et al. Longitudinal Study of Delta-Aminolevulinatase Dehydratase Activity and Oxidative Profile in Healthy Pregnant Women. *Biomolecules.* 2019;9(1).
  176. Zusterzeel PL, Rütten H, Roelofs HM, Peters WH, Steegers EA. Protein carbonyls in decidua and placenta of pre-eclamptic women as markers for oxidative stress. *Placenta.* 2001;22(2-3):213-9.
  177. Taravatia A, Tohidib F. Comprehensive analysis of oxidative stress markers and antioxidants status in preeclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2018; 57(6):779-90.
  178. Li H, Yin Q, Li N, Ouyang Z, Zhong M. Plasma Markers of Oxidative Stress in Patients with Gestational Diabetes Mellitus in the Second and Third Trimester. *Obstet Gynecol Int.* 2016;2016:3865454.
  179. Tiwari AK, Mahdi AA, Zahra F, Chandyan S, Srivastava VK, Negi MP. Evaluation of oxidative stress and antioxidant status in pregnant anemic women. *Indian J Clin Biochem.*

- 2010;25(4):411-18.
180. Martin JA, Sastre J, de la Asunción JC, Pallardó FV, Viña J. Hepatic  $\gamma$ -cystathionase deficiency in patients with AIDS. *J Am Med Associat.* 2001;285(11):1444-5.
  181. Smith RL, de Boer R, Brul S, Budovskaya Y, van Spek H. Premature and accelerated aging: HIV or HAART? *Front Genet.* 2013;3:328.
  182. Anderson SM, Naidoo RJ, Pillay Y, Tiloke C, Muttoo S, Asharam K, et al. HIV induced nitric oxide and lipid peroxidation, influences neonatal birthweight in a South African population. *Environment International.* 2018;121:1–12.
  183. Korovay S, Stetsenko S, Bondareva A. Antioxidant Protection Status and Lipoperoxidation Processes in Women with Premature Birth in Different Terms of Gestation. *Georgian Med News.* 2019;287:20-5.
  184. Ekun OA, Ogidi NO, Lawal RA, Ogunmuyiwa OA, Umewune MC, Adefolaju FO, et al. Interrelationship Between Markers of Oxidative Stress, Inflammation and Hematological Parameters Among Preeclamptic Nigerian Women. *Med Sci Monit Basic Res.* 2018;24:225-31.
  185. Dagenais-Lussier X, Mouna A, Routy JP, Tremblay C, Sekaly RP, El-Far M. Current topics in HIV-1 pathogenesis: The emergence of deregulated immuno-metabolism in HIV-infected subjects. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2015;26(6):603-13.
  186. Scagnolari C, Antonelli G. Type I interferon and HIV: subtle balance between antiviral activity, immunopathogenesis and the microbiome. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2018;40:19–31.
  187. Tincati C, Douek DC, Marchetti G. Gut barrier structure, mucosal immunity and intestinal microbiota in the pathogenesis and treatment of HIV infection. *AIDS Res Ther.* 2016;13:19.
  188. Perkins MR, Bartha I, Timmer JK, Liebner JC, Wolinsky D, Günthard HF, et al. The Interplay Between Host Genetic Variation, Viral Replication, and Microbial Translocation in Untreated HIV-Infected Individuals. *J Infect Dis.* 2015;212(4):578-84.
  189. Neal MD, Leaphart C, Levy R, Prince J, Billiar TR, Watkins S, et al. Enterocyte TLR4 mediates phagocytosis and translocation of bacteria across the intestinal barrier. *J Immunol.* 2006;176(5):3070-9.
  190. Harris K, Kassis A, Major G, Chou CJ. Is the gut microbiota a new factor contributing to obesity and its metabolic disorders? *J Obes.* 2012;2012:879151.
  191. Mu Q, Cabana-Puig X, Mao J, Swartwout B, Abdelhamid L, Cecere TE, et al. Pregnancy and lactation interfere with the response of autoimmunity to modulation of gut microbiota *Microbiome.* 2019;7(1):105.
  192. Mitchell CD, Dominguez S, Roach M, George V, Rinaldi S, Fischl M, et al. Microbial Translocation and Immune Activation in HIV-1 Infected Pregnant Women. *Curr HIV Res.* 2018;16(3):208-15.
  193. Baroncelli S, Maria Galluzzo C, Liotta G, Orlando S, Ciccacci F, Andreotti M, et al. IgG abnormalities in HIV-positive Malawian women initiating antiretroviral therapy during pregnancy persist after 24 months of treatment. *Int J Infect Dis.* 2019;88:1-7.
  194. Mestecky J1, Jackson S, Moldoveanu Z, Nesbit LR, Kulhavy R, Prince SJ, et al. Paucity of antigen-specific IgA responses in sera and external secretions of HIV-type 1-infected individuals. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2004;20(9):972-88.
  195. Gori A, Tincati C, Rizzardini G, Torti C, Quirino T, Haarman M, et al. Early impairment of gut function and gut flora supporting a role for alteration of gastrointestinal mucosa in human immunodeficiency virus pathogenesis. *J Clin Microbiol.* 2008;46(2):75.

## 8. ANEXOS

### **Anexo I. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) RESOLUÇÃO 466/2012 (G1)**

CONVIDO, o Senhor (a) para participar do Projeto de Pesquisa intitulado “**Avaliação da translocação microbiana, perfil de citocinas e de hormônios, estrógeno e progesterona, no período gestacional de mulheres infectadas pelo HIV**”, que será desenvolvido por mim Vanessa Martinez Manfio, farmacêutica e Mestre em doenças tropicais, com orientação do profissional Médico (a) e Professor (a) Lenice do Rosário de Souza da Faculdade de Medicina de Botucatu –UNESP.

Estou estudando uma doença HIV/aids. Para que eu possa ter um resultado nesse momento preciso coletar 10ml do seu sangue que será realizado os seguintes exames: ELISA, CBA e marcadores de ativação imune. O risco com a coleta de sangue será a picadinha da agulha e uma manchinha roxa que desaparecerá bem rapidamente.

Informo que o material biológico colhido do Senhor(a) ,não será usado em sua totalidade e parte dele será armazenada na Faculdade de Medicina. Para reutilização desse material será escrito um novo projeto de pesquisa, com um novo termo de consentimento para que o Senhor (a) assine nova autorização para utilização desse material.

Solicito também seu consentimento para consultar seu prontuário médico para coletar outras informações lá contidas como Carga viral e TCD4+ referentes a consultas feitas anteriormente pelo (a) Senhor (a). Além disso o(a) Senhor (a) responderá um questionário que levará uns 15 minutos de duração.

Seu benefício em participar será para futuros pacientes, após os pesquisadores terem o conhecimento dos resultados da pesquisa. Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirar-lo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo na continuidade do seu tratamento.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em 2 vias de igual teor, o qual 01 via será entregue ao Senhor (a) devidamente rubricada, e a outra via será arquivada e mantida pelos pesquisadores por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00 às 11.30 e das 14.00 às 17horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descrito:

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, CONCORDO EM PARTICIPAR de forma voluntária, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo que os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados em revistas científicas, sem no entanto, que minha identidade seja revelada.

Botucatu, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Pesquisador

Lenice do Rosário de Souza;  
End: Rua Salim Kahil,150, Vila Nogueira, Botucatu  
Tel: 14 38821395; E-mail: lsouza@fmb.unesp.br

\_\_\_\_\_  
Participante da Pesquisa

Vanessa Martinez Manfio  
End: Rua Miguel Catharino 339, Jd panorama, Botucatu  
Tel: 14 997223003 Email:vanessamanfio@hotmail.com

**ANEXO II. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) RESOLUÇÃO  
466/2012 – G2**

CONVIDO, o Senhor (a) para participar do Projeto de Pesquisa intitulado “**Avaliação da translocação microbiana, perfil de citocinas e de hormônios, estrógeno e progesterona, no período gestacional de mulheres infectadas pelo HIV**”, que será desenvolvido por mim Vanessa Martinez Manfio, farmacêutica e Mestre em Doenças Tropicais, com orientação do profissional do médico (a) e Prof (a) Lenice do Rosário de Souza da Faculdade de Medicina de Botucatu –UNESP.

Sua participação nesta pesquisa se dará por ser uma pessoa saudável, sem nenhum tipo de doença. Todos os dados que obtivermos com sua participação é meramente para compararmos com os dados de outros participantes que possuem a doença que estamos estudando.

Solicito também seu consentimento para levantar seu prontuário médico para coletar outras informações lá contidas, que possam fornecer subsídios para fazer comparação entre o indivíduo saudável e em tratamento de doença. Além disso o(a) Senhor (a) responderá um questionário que levará uns 15 minutos de duração. O Senhor (a) não terá nenhum benefício em participar desta pesquisa, pois como já explicamos seus dados serão meramente para comparar com os dados de uma pessoa em tratamento de doença.

Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirá-lo a qualquer momento, sem qualquer penalidade.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em 2 vias de igual teor, o qual 01 via será entregue ao Senhor (a) devidamente rubricada, e a outra via será arquivada e mantida pelos pesquisadores por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00 às 11.30 e das 14.00 às 17horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descrito:

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, **CONCORDO EM PARTICIPAR** de forma voluntária, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardo através do sigilo que os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados e revistas científicas, sem no entanto, que minha identidade seja revelada.

Botucatu, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

**Pesquisador**

Lenice do Rosário de Souza;  
End: Rua Salim Kahil,150, Vila Nogueira, Botucatu  
Tel: 14 38821395; E-mail: lsouza@fmb.unesp.br

---

**Participante da Pesquisa**

Vanessa Martinez Manfio  
End: Rua Miguel Catharino 339, Jd panorama, Botucatu  
Tel: 14 997223003 Email:vanessamanfio@hotmail.com

## 10. APÊNDICE I

## RESULTADOS MAIS RELEVANTES DO ESTUDO

## Gestantes:

Início gestação:	<p>maior SOD, CAT e MDA nas HIV+ do que HIV- (fatorial e longitudinal)</p> <p>maior iFABP e IgA nas HIV+ do que nas HIV- (fatorial e longitudinal)</p> <p>ou seja, ↑ SOD CAT iFABP IgA nas HIV+.</p>
Pré-parto:	<p>maior CARBO e MDA nas HIV- do que as HIV+ (fatorial e longitudinal)</p> <p>maior iFABP nas HIV+ do que nas HIV- (fatorial e longitudinal)</p> <p>ou seja, ↓ CARBO ↑ iFABP nas HIV+.</p>
Pós-parto:	<p>maior CAT e MDA nas HIV+ (longitudinal)</p> <p>maior iFABP e IgM e menor LPS e IgG nas HIV+ do que nas HIV- (fatorial para todos, e longitudinal apenas para iFABP e LPS)</p> <p>ou seja, ↓ CARBO ↑ iFABP nas HIV+.</p>

## Não gestantes/fatorial:

maior SOD, CAT e CARBO nas HIV+ que HIV-

maior iFABP, LPS, sCD14 e IgA nas HIV+ do que nas HIV-

maior EO e TM nas HIV+