CRISTIANE LIMA ROA

**Efeitos da melatonina no tratamento supressivo do
herpes genital recorrente**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Obstetrícia e Ginecologia

Orientador: Prof. Dr. José Maria Soares
Júnior

São Paulo

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Roa, Cristiane Lima
Efeitos da melatonina no tratamento supressivo
do herpes genital recorrente / Cristiane Lima Roa. -
- São Paulo, 2021.
Dissertação (mestrado) -- Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Obstetrícia e Ginecologia.
Orientador: José Maria Soares Júnior.

Descritores: 1. Herpes genital 2. Aciclovir
3. Melatonina 4. Mulheres 5. Tratamento supressivo
6. Qualidade de vida

USP/FM/DBD-138/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigência no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (ABNT)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Dedicatória

Ao meu querido filho ***Luís Paulo***,

a quem dedico amor incondicional.

A meus pais ***Ambrósio*** e ***Maria Aparecida***, que me trouxeram ao mundo,

dedicaram-se a meu desenvolvimento e sempre me

estimularam a chegar mais longe.

Ao meu querido esposo ***Peter***, meu companheiro de vida

e que sempre está presente nos momentos em que mais preciso.

Agradecimentos

A **Deus**,

À minha **família**, e

Em especial, ao Prof. Dr. **José Maria Soares Júnior**, meu orientador, com quem tive e continuo tendo muitos ensinamentos de vida.

À Dra. **Lana Maria de Aguiar**, minha grande mestra, pela amizade, estímulo, apoio e orientação.

Ao Prof. Dr. **Edmund Chada Baracat**, que me proporcionou a oportunidade de desenvolver esta Dissertação.

Ao Prof. Dr. **Nilo Bozzini**, pela amizade e incentivo nesta jornada.

Aos amigos do Ambulatório de Ginecologia, Dr. **Walter da Silva Pinheiro**, Dra. **Maricy Tacla**, Dra. **Arlete Gianfaldoni**, Dra. **Elsa Gay de Pereyra**, Profa. Dra. **Iara Moreno Linhares**, Profa. Dra. **Isabel Cristina Espósito Sorpreso**, Dr. **José Alcione Macedo de Almeida**, Dr. **Theo Lerner**, Dra. **Anne Kristhine Cavalcante Pereira**, Dra. **Noely Lorenzi**, Dra. **Cristina Castanheira**, Dra. **Cristina Bianchi**, Dr. **Celso Boreli** e Dra. **Marissa Fernandes**.

Aos Profs. **José Cipolla Neto**, **Russel J. Reiter** e **Ana Paula Lepique** pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Aos queridos **Residentes** e **Preceptores**, obrigada pelo rico convívio diário.

Aos queridos amigos profissionais dedicados do ambulatório de Ginecologia, enfermeira **Cristina Miyuki Origassa**, auxiliares de enfermagem **Maria de Lourdes**, **Aline**, **Helena**, **Sônia**, **Lúcia**, **Erica**, **Marcelina**, **Abigail** e profissionais da Divisão de Arquivo Médico **Márcia**, **Raquel** e **Maria da Dores**.

Aos amigos funcionários da Ginecologia, **Celia, Josenilda, Sônia, Sílvia, Eunice, Cristiane e Giovana.**

À Claudia Vieira, pelo incentivo e ajuda na formatação desta Dissertação.

À secretária da Pós-Graduação de Obstetrícia e Ginecologia, **Lucinda Cristina Pereira** pela orientação em todos os momentos deste trabalho.

Por fim, agradeço sinceramente às **pacientes** que confiaram em mim e dedicaram seu tempo a esta pesquisa, mesmo num momento difícil e incerto.

Sumário

Lista de Abreviaturas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Summary

1	Introdução	1
2	Objetivos	
2.1	Geral	19
2.2	Específicos	19
3	Métodos	
3.1	Seleção	20
3.2	Critérios de Elegibilidade	
3.2.1	Critérios de inclusão	20
3.2.2	Critérios de exclusão	21
3.2.3	Visitas ambulatoriais	21
3.3	Mascaramento e Randomização das pacientes	28
3.4	Instrumentos	29
3.5	Aplicação da citometria de fluxo	31
3.6	Coleta de dados e controle de qualidade	34
3.7	Critérios de exclusão do tratamento	
3.7.1	Falha de seguimento	34
3.7.2	Falha de tratamento	35
3.7.3	Seguimento pós término da medicação	36
3.8	Cáculo de tamanho de amostra e análise estatística	36
4	Resultados	38
5	Discussão	46
6	Conclusões	58
7	Anexos	59
8	Referências	87

Lista de Abreviaturas e Siglas

CD4+	<i>Cluster of differentiation 4</i>
CD8+	<i>Cluster of differentiation 8</i>
EUA	Estados Unidos da América
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HIV	Vírus da imunodeficiência humana adquirida
HSV	Herpes vírus simples
HSV1	Herpes vírus simples tipo I
HSV2	Herpes vírus simples tipo II
IF	Imunofluorescência
IFN- γ	Interferon gama
IL-2	Interleucina – 2
IMC	Índice de massa corpórea
IST	Infecção sexualmente transmissível
MT1 e 2	Receptor de membrana de melatonina tipo 1 e 2
PCR	Reação em cadeia de polimerase
RN	Recém-nascido
RTE	Efeito Relativo do Tratamento
SNC	Sistema Nervoso Central
TAQ	<i>Thermus aquaticus</i>
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
VDRL	<i>Veneral disease research laboratory</i>

Lista de Figuras

Figura 1	Herpes vírus simples – esquema estrutural.....	2
Figura 2	Quadro clínico da infecção herpética genital – fases da lesão herpética: 2.a -placa eritematosa, 2.b vesículas confluentes, 2. c úlceras rasas e 2.d cicatrização.....	5
Figura 3	Diagnóstico diferencial: 3 a). Molusco contagioso. 3 b) Vuvite micótica. 3 c) Herpes zoster. 3 d) Cancróide. 3 e) Neoplasia vulvar. 3 f) Cancro primário da sífilis.....	8
Figura 4	Mecanismo de ação do aciclovir.....	12
Figura 5	Biossíntese da melatonina.....	14
Figura 6	Imunidade e melatonina.....	16
Figura 7	Fluxograma do Estudo.....	22
Figura 8	Tipos de citômetros. 8.a FACSCalibur 8.b FACSCantoll 8.c Beckman Coulter NAVIOS.....	33
Figura 9	Recidiva de herpes genital em 30 e 60 dias, após o término do tratamento entre os grupos investigados....	40
Figura 10	Relação CD4/CD8 e grupos pré e pós-tratamento.....	42
Figura 11	Relação linfócitos e grupos investigados pré e pós tratamento.....	43

Lista de Tabelas

Tabela 1	Impacto global das IST.....	4
Tabela 2	Interpretação do diagnóstico laboratorial para HSV.....	7
Tabela 3	Esquematização das visitas ambulatoriais.....	27
Tabela 4	Grupos de estudo e posologia.....	28
Tabela 5	Critérios de exclusão (falhas de tratamento e seguimento)...	35
Tabela 6	Diferenças entre os grupos em relação à idade da menarca, idade da primeira relação, número de parceiros sexuais, gestação, paridade, aborto e índice de massa corporal.....	38
Tabela 7	Características sociodemográficas das mulheres avaliadas de acordo com os grupos de investigação.....	39
Tabela 8	Evolução de parâmetros hematológicos e glicemia de jejum antes e depois do tratamento de acordo com os grupos de investigação.....	41
Tabela 9	Evolução das escalas de Beck, Lanns, EVA e Epworth antes e depois do tratamento de acordo com os grupos de investigação.....	44
Tabela 10	Evolução da qualidade de vida antes e depois do tratamento de acordo com os grupos de investigação.....	45

Resumo

Roa CL. *Efeitos da melatonina no tratamento supressivo do herpes genital recorrente* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

Herpes genital é uma infecção comum e crescente mundialmente. Seu agente etiológico é o herpes vírus simples, cepas 1 e 2. O tratamento clássico é feito com aciclovir, que reduz tempo de doença, previne erupções, mas sem efeito curativo. Estudos mostraram resistência ao aciclovir, estimulando pesquisas de novos fármacos, sobretudo para casos recorrentes. Melatonina é uma possibilidade terapêutica em razão de sua ação moduladora de respostas imunológicas e inflamatórias. Objetivo: analisar os efeitos e a eficácia da melatonina em associação com aciclovir ou ambos isoladamente no tratamento supressivo do herpes genital recorrente. Desenho de estudo: ensaio clínico prospectivo, duplo-cego, randomizado e registrado no ClinicalTrials.gov (12.152.08). Inicialmente, 200 mulheres foram triadas no Setor de Patologia do Trato Genital Inferior da Divisão de Ginecologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Após seleção e assinatura do TCLE, 90 mulheres imunocompetentes, entre 15 e 49 anos, com diagnóstico clínico de herpes genital recorrente foram incluídas e alocadas em três subgrupos de 30 integrantes cada: a) grupo ABC (aciclovir) recebeu 360 cápsulas de aciclovir 400mg divididas em dois frascos denominados dia e noite; b) grupo BCA (melatonina) recebeu 180 cápsulas de placebo no frasco dia e 180 cápsulas de melatonina 3mg no frasco noite; c) grupo CAB (aciclovir com melatonina) recebeu 180 cápsulas de aciclovir 400mg no frasco dia e 180 cápsulas de melatonina no frasco noite. As participantes foram orientadas a tomar uma cápsula do frasco dia às 10 horas e uma cápsula do frasco noite às 22 horas, por um período de seis meses. Os instrumentos utilizados para avaliação foram: questionário de qualidade de vida SF-36 (avalia capacidade funcional, aspectos sociais e emocionais e saúde mental); inventário de depressão de Beck (avalia a gravidade de episódios depressivos); escala de sonolência de Epworth (mede níveis de sonolência diurna); escala visual analógica (EVA) de dor e escala de dor de Lanns (evolução da dor). Avaliação clínica para detectar lesões vulvares (placa eritematosa, vesículas e úlceras rasas) e coleta de exames laboratoriais (hemograma, glicemia, sorologia para HIV, VDRL, HSV e imunofenotipagem para linfócitos T) foram realizados. O seguimento foi feito em oito visitas ambulatoriais. Resultados: Foram avaliadas 56 mulheres que concluíram a pesquisa: 19 (33,9%) no grupo melatonina, 15 (26,8%) no grupo

aciclovir e 22 (39,3%) no grupo aciclovir com melatonina. A média etária foi homogênea entre os grupos, de 39 ± 11 a 41 ± 9 anos. Não foram observadas diferenças significativas para idade da menarca, idade da primeira relação, número de parceiros sexuais, gestação, paridade, aborto e índice de massa corporal. A relação linfócitos CD4/CD8 não foi diferente entre os momentos pré- e pós-tratamento. No grupo melatonina, esta medida foi de $1,79 \pm 0,71$ para $1,82 \pm 0,73$, enquanto no aciclovir foi de $2,10 \pm 0,75$ para $2,12 \pm 0,88$ e no grupo aciclovir com melatonina, foi de $1,90 \pm 0,72$ para $2,02 \pm 0,73$, sem diferença estatisticamente significativa ($p=0,451$). A recidiva de herpes genital em 30 dias foi verificada em 10,5% das participantes no grupo melatonina, 31,8% no grupo aciclovir com melatonina e 13,3% no grupo aciclovir ($p=0,228$). Em relação ao período de 60 dias, observou-se recidiva em 15,8% das mulheres do grupo melatonina, 36,4% no grupo aciclovir com melatonina, e 33,3% no grupo aciclovir ($p=0,369$). A qualidade de vida também foi avaliada antes e depois do tratamento. Com exceção do componente de limitação por aspectos emocionais, nenhum outro apresentou significância estatística. No domínio referido, o grupo melatonina diminuiu o efeito relativo de tratamento (ERT) de 0,604 para 0,394, enquanto no aciclovir observou-se o aumento de 0,520 para 0,565 e, na combinação o ERT se manteve estável. Conclusões: A melatonina mostrou-se um fármaco bem tolerado pelas participantes deste estudo, podendo ser sugerida como uma opção terapêutica no tratamento supressivo do herpes genital recorrente. Porém, sua associação com o aciclovir não tem vantagem em relação ao uso dos medicamentos isoladamente. Novos estudos são necessários para melhor compreensão dos efeitos imunológicos da melatonina, bem como para validar seu uso como uma alternativa no tratamento da infecção herpética genital recorrente.

Descritores: herpes genital, aciclovir, melatonina, mulheres, tratamento supressivo, qualidade de vida.

Summary

Roa CL. *Effects of melatonin on the suppressive treatment of recurrent genital herpes* [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2021.

Genital herpes is an increasingly common infection worldwide. The etiologic agent is the type 1 and 2 herpes simplex virus. Treatment is classically done with acyclovir, which decreases the duration of the episode and prevents rashes but has no curative effect. Studies show herpes resistance to acyclovir, which has stimulated research into new drugs to treat this condition. Melatonin may be a therapeutic agent in herpetic disease due to its modulatory action in immune and inflammatory responses when administered in adequate doses. Objective: to analyze the effects and efficacy of melatonin in association with acyclovir or both separately for the treatment of recurrent genital herpes. Study design: prospective, double-blind, randomized clinical trial registered in ClinicalTrials.gov (12.152.08). 200 women were referred to the Lower Genital Tract Pathology Outpatient Clinic of the Gynecology Division of the Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. After selection and signature of the informed consent, 90 immunocompetent women, between 15 and 49 years old, with clinical diagnosis of recurrent genital herpes were included and allocated into three subgroups of 30 members each: a) abc group (acyclovir) received 360 capsules of acyclovir 400mg divided into two vials called morning and night; b) BCA group (melatonin) received 180 placebo capsules in the morning vial and 180 melatonin capsules 3mg in the night bottle; c) CAB group (acyclovir with melatonin) received 180 capsules of acyclovir 400mg in the morning vial and 180 capsules of melatonin in the night bottle. All women were instructed to take one capsule from the morning vial at 10 a.m. and one capsule from the night bottle at 10 p.m. during six months. The instruments used for evaluation were: SF-36 quality of life questionnaire (assesses functional capacity, social and emotional aspects and mental health); Beck depression inventory (assesses the severity of depressive episodes); Epworth sleepiness scale (measures levels of daytime sleepiness); visual analog pain scale (VAS) and Lanns pain evolution scale. Clinical evaluation to detect vulvar lesions (erythematic plaque, vesicles, shallow ulcers and scars) and laboratory tests (blood count, blood glucose, HIV serology, VDRL, HSV and immunophenotyping for T lymphocytes) were performed. Follow up included eight visits. Results: Fifty-six women who completed the study were evaluated: 19 (33.9%) melatonin group, 15 (26.8%) in the acyclovir group and 22 (39.3%) in the acyclovir group with melatonin.

The mean age was homogeneous between the groups, varying between 39 ± 11 and 41 ± 9 years. No significant differences were observed for age at menarche, age of first intercourse, number of sexual partners, pregnancy, parity, abortion and body mass index. The CD4/CD8 lymphocyte ratio did not change between pre- and post-treatment moments. In the melatonin group, this measurement went from 1.79 ± 0.71 to 1.82 ± 0.73 , while in acyclovir it went from 2.10 ± 0.75 to 2.12 ± 0.88 and in the acyclovir with melatonin group, from 1.90 ± 0.72 to 2.02 ± 0.73 ($p=0.451$). The recurrence of genital herpes at 30 days was observed in 10.5% of the participants in the melatonin group, 31.8% in the acyclovir group with melatonin and 13.3% in the acyclovir group ($p=0.228$). Recurrence at 60 days was observed in 15.8% of the women in the melatonin group, 36.4% in the acyclovir with melatonin group, and 33.3% in the acyclovir group ($p=0.369$). Quality of life was also assessed before and after treatment. With the exception of the limitation component by emotional aspects, none of the others presented statistical significance. In the mentioned domain, the melatonin group decreased the relative treatment effect (RTE) from 0.604 to 0.394, while in acyclovir an increase was observed from 0.520 to 0.565 and, in combination, the RTE remained stable. Conclusions: Melatonin is a well-tolerated drug and can be considered an option in the treatment of recurrent genital herpes. However, its association with acyclovir has no advantage over the use of medications alone. Further studies are needed to better understand the immunological effects of melatonin, as well as to validate its use as an alternative in the treatment of recurrent genital herpetic infection.

Descriptors: genital herpes, acyclovir, melatonin, women, suppressive treatment, quality of life

1 INTRODUÇÃO

Constitui, o herpes genital, doença infectocontagiosa, recidivante, com crescente prevalência tanto em países industrializados como naqueles em desenvolvimento (Parra-Sánchez, 2019). Seu agente etiológico é o herpes vírus simples (HSV) cepa tipo dois (HSV2), conforme demonstra a Figura1, que tem predileção pela região genital (Corey e Spear, 1986), porém, não é incomum o herpes vírus tipo um (HSV1), que a “priori” infecta a região orofacial, ser o causador da infecção herpética genital, esta situação ocorre, sobretudo, em razão das práticas sexuais, como o sexo oral (Lafferty et al., 2000) e é atribuído, preferencialmente, a mulheres jovens (Magdaleno-Tapia, 2020) e homossexuais masculinos (Hu et al., 2017)..

Tanto o HSV1 como o HSV2 pertencem à família *Herpesviridae*, gêneros *Simplexvírus* e *Varicellovírus* que se caracterizam pela neurovirulência, neuroinvasão, latência e reativação (Looker e Garnett, 2008). Possuem um ciclo reprodutivo rápido em cultura celular, com efeito citopático nas células infectadas; acometendo um amplo espectro de hospedeiros (Gupta et al., 2007).

O HSV é um DNA vírus, termolábil, sensível ao éter, fenol e formol, parcialmente inativado pela radiação ultravioleta e resistente ao resfriamento (Gómez-Moreno et al., 2010).

Este vírus tem como característica biológica ficar sob latência nos gânglios sensitivos, transformando o hospedeiro em um potencial multiplicador da doença nos seus períodos de reativação (Geller et al., 2012). Na maioria dos casos, acomete jovens, entre 15 e 49 anos, e pode ser assintomático em várias mulheres.

Figura 1 - Herpes vírus simples – esquema estrutural

Fonte: Roizman et al., 2007

A prevalência da infecção herpética pelo HSV2 é variável em todo mundo. Em torno de 25% dos norte americanos adultos e entre quatro e 14% dos europeus e australianos estão infectados pelo vírus. Em muitos países, o HSV2, como Inglaterra, Escócia, Estados Unidos da America (EUA), Dinamarca, Holanda e Japão é mais frequente que o HSV1. Na Nova Zelândia, um a cada cinco indivíduos está contaminado, sendo 60% dos casos assintomáticos ou com manifestações inespecíficas (Penello et al., 2010). Nos EUA, em 2018, havia uma estimativa de prevalência de infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) de 67,6 milhões e uma incidência em torno de 26,2 milhões de ISTs. Clamídia, tricomoníase, herpes genital e HPV representaram 97,6% de todas as ISTs prevalentes e 93,1% de todas as ISTs incidentes. Pessoas entre 15 e 24 anos representaram 18,6% (12,6 milhões) de todas as infecções prevalentes; no

entanto, eles representaram 45,5% (11,9 milhões) de todas as infecções incidentes. (Kreisel et al., 2021).

Conforme a Organização Mundial de Saúde (OMS), a soroprevalência do HSV2, nas diferentes regiões do mundo, encontra-se entre 60% e 95% nos indivíduos infectados com HIV e profissionais do sexo e entre sete e 40% nas gestantes (Gupta et al., 2007; Delaney et al., 2014, Workowski e Bolan, 2015), conforme os dados da Tabela 1.

Os fatores de risco para contaminação herpética são: sexo sem uso de preservativo feminino ou masculino, com parceiro sexual infectado, multiplicidade de parceiros, história prévia de IST (infecção sexualmente transmissível) e coitarca precoce (Lupi e Pereira Jr., 2000; Gupta et al., 2007; Workowski e Bolan, 2015). O risco de transmissão de HSV é seis vezes maior do homem para a mulher e as taxas anuais de recorrência são altas, sendo entre 70% e 90% para indivíduos com HSV2 e entre 20% e 50% para aqueles com HSV1. O período de incubação varia de um a 26 dias, após contato (Penello et al., 2010).

Tabela 1 - Impacto global das ISTs

Nome	Agente	Prevalência Mundial	Cura	Risco de Morte
HIV/AIDS	Virus	37 milhões	Não	Sim
Hepatite B	Virus	300 milhões	Não	Sim
Hepatite C	Virus	170 milhões	Sim	Sim
HPV	Virus	630 milhões	Não	Sim
Herpes Genital	Virus	536 milhões	Não	Não
Sífilis	Bactéria	6,3 milhoes	Sim	Sim
Gonorreia	Bactéria	87 milhoes	Sim	Sim
Clamídia	Bactéria	127 milhoes	Sim	Não
Tricomonas	Protozoário	156 milhoes	Sim	Não

>1 milhão de pessoas = incidência global diária de IST (infecção sexualmente transmissível)

Fonte: Adaptado do Unaid, 2018

O quadro clínico pode ser dividido em primoinfecção e recorrência. A primoinfecção é assintomática ou extremamente sintomática e pode ser precedida por febre, mialgia, cefaleia e adinamia (Mc Cormack e Walsh, 2005). Dor, ardor, prurido e eritema são os primeiros sinais e sintomas da doença, após surgem vesículas sobre a base eritematosa que, em quatro a cinco dias exulceram-se. Adenopatias inguinais ou femorais acompanham o processo em 75% dos casos. Normalmente, o curso da moléstia dura de duas a três semanas. As recorrências são mais brandas, manifestam-se nos mesmos locais acometidos previamente, todavia em menor número de lesões (Figura 2).

Figura 2 – Quadro clínico da infecção herpética genital – fases da lesão herpética: 2.a -placa eritematosa, 2.b vesículas confluentes, 2. c úlceras rasas e 2.d cicatrização

Fonte: arquivo pessoal, 2018

Adenopatias surgem em cinco por cento dos casos e o curso da doença não se estende por mais de uma semana. Complicações como úlceras maiores e persistentes, comprometimento do SNC e infecções secundárias são encontradas em pacientes imunodeprimidas. Estudo soro epidemiológico feito no Brasil com 100 pacientes HIV positivo acusou uma prevalência de 73% para o HSV2. Trabalhos diversos demonstram que três mecanismos são importantes na relação HIV e HSV. O primeiro mecanismo mostra que úlceras genitais herpéticas sintomáticas, frequentemente, causam inflamação local e rompimento da mucosa do trato genital, o que facilita a penetração do HIV durante a exposição dos fluídos genitais (Koelle et al., 1994; Wald e Link, 2002). O segundo mecanismo defende que úlceras aumentam seletivamente o recrutamento local de células CD4+, servindo como alvo para o HIV na mucosa. O terceiro mecanismo observou HIV capaz de replicação isolado em lesão de HSV2 (Schacjer et al., 1998).

O diagnóstico é clínico, baseado na história e exame físico. Os testes laboratoriais para HSV têm importância evidente para indivíduos imunocomprometidos, transplantados, gestantes, recém-nascidos (RN) e na suspeita de encefalite (Rouse e Stringer, 2000; Varella et al., 2005). Estes são: Teste de Tzank, cultura viral, detecção de antígeno (Elisa ou Imunofluorescência) e PCR real time.

O citodiagnóstico de Tzank consiste em raspar a base da lesão vesiculosa, corar o material pelo método de Giemsa e sob visão microscópica pesquisar a presença ou não de células epiteliais gigantes multinucleadas com inclusões intracelulares (Whitley e Roizman, 2001). A cultura viral avalia o produto das vesículas após 24 a 48 horas. Esta técnica tem alta especificidade, porém, sensibilidade baixa em lesões cicatrizadas.

Os métodos de detecção de antígenos são rápidos, com custo reduzido, especificidade alta, mas sensibilidade baixa.

O exame de reação em cadeia da polimerase (PCR) é o teste mais sensível e serve, tanto para pacientes sintomáticos como assintomáticos, é rápido, entretanto, caro. O PCR é uma técnica molecular baseada no conhecimento prévio de uma sequência de DNA de até 1 Kb, característica da espécie que se quer detectar e no uso de um oligonucleotídeo artificial complementar a esta sequência denominado primer (iniciador). O primer parear-se-á com o segmento correspondente de uma das hastes do DNA estudado; se ele existir efetivamente na amostra (Chatis e Crumpacker, 1992). DNA da amostra, excesso molar de primers, nucleotídeos e enzima chamada Taq (*Thermus aquaticus*) – polimerase

são misturados no termociclador. A temperatura é diminuída e a Taq-polimerase inicia a integração dos nucleotídeos às hastes, ressintetizando a dupla haste. Após o primeiro ciclo, haverá duas duplas hastes completas de DNA derivadas de uma única dupla haste. No segundo ciclo o processo é repetido com ampliação cada vez maior das duplas hastes sintetizadas como uma reação em cadeia. Ao final de, ao mínimo, 20 ciclos haverá bilhões de cópias da dupla haste original que poderão ser visualizadas por hibridização em micropoços, seguidas de reação colorimétrica ou por eletroforese e reação com brometo de etídio. O PCR real time detecta os produtos do DNA amplificado a partir de PCR; à medida que ele se acumula, em vez de ser somente no final da reação. Útil para pesquisas e análise do líquido; este material para detecção do HSV será empregado para avaliar o sistema imunológico e até o polimorfismo que possa interferir na resposta terapêutica (Chatís e Crumpacker, 1992), conforme os dados da Tabela 2.

Tabela 2 - Interpretação do diagnóstico laboratorial para HSV

Tipo de exame	Resultado	Interpretação	Considerações
Cultura (viral) de vesículas ou úlceras	+	Infecção aguda	Alta especificidade, porém há queda da sensibilidade em lesões curadas.
ELISA (sorologia)	+	Primoinfecção ou infecção aguda	Baixa sensibilidade e alta especificidade, distingue HSV1 e HSV2
Esfregaço de Tzank	+	Infecção aguda	Baixa sensibilidade e especificidade. Não distingue tipo viral. Visualizam-se células multinucleadas, gigantes.
PCR	+	Infecção aguda	Detecta o HSV no tecido, líquido ou amostra celular. Sensível, específico e rápido. Diferencia HSV-1 e HSV-2
Western Blot	+ -	Primoinfecção Recorrência	Detecta glicoproteína G; diferencia HSV-1 e HSV-2. Padrão ouro para detectar anticorpos (IgM e IgG).

Fonte: A Pesquisadora

O diagnóstico diferencial inclui doenças com lesões genitais dolorosas, como cancroide ou cancro mole, sífilis, linfogranuloma venéreo, donovanose, herpes zoster, candidíase, escabiose, piodermites, doença de Behçet, traumas locais e dermatites pós - radioterapia (Varella et al., 2005) (Figura 3).

Figura 3 - Diagnóstico diferencial: 3 a) Molusco contagioso. 3 b) Vulvite micótica. 3 c) Herpes zoster. 3 d) Cancróide. 3 e) Neoplasia vulvar. 3 f) Cancro primário da sífilis

Fonte: arquivo pessoal, 2018

Durante o ciclo gestacional, o herpes genital pode estar associado a abortos espontâneos, prematuridade, herpes congênito e neonatal (Kimberlim e Rouse, 2004; Workowski e Bolan, 2015). A transmissão vertical da mãe infectada para o recém – nascido (RN) durante o parto pode resultar em infecção disseminada, complicações no Sistema Nervoso Central e/ou morte do RN, mesmo quando se inicia o tratamento precocemente (Gupta et al, 2007; Workowski e Bolan, 2015). A maioria das mães de RNs com herpes neonatal não apresentava história clínica de herpes genital. O risco da transmissão para o RN de uma mãe infectada é elevado (entre 30% e 50%) mas as mulheres que adquirem herpes genital próximo ao parto é baixo (< 1%) entre mulheres com herpes recorrente durante o pré-natal ou que adquirem HSV genital durante a primeira metade da gestação (Kimberlim e Rouse, 2004; Cernik et al., 2008). As grávidas de maior risco são as soronegativas para HSV e as soropositivas que apresentem ou não recorrência de infecção sintomática, sobretudo no terceiro trimestre, pelo risco de transmissão vertical (Delaney et al., 2014).

Para mulheres sem sinais e sintomas de herpes genital ou sem sinais prodrômicos, o parto vaginal não é contraindicado. A cesariana não elimina o risco de contaminação completamente (Rouse e Stringer, 2000). A infecção do RN pode ocorrer via intra-uterina (raro), contato fetal com secreções maternas no decorrer do parto (entre 75% e 80%) e contato pós-natal com parentes ou funcionários do hospital portadores de herpes orofacial (Cernik et al., 2008).

Atualmente, não há nenhum tratamento curativo para herpes genital (Cole, 2020). Os fármacos utilizados são capazes de diminuir o tempo da doença, prevenir erupções e reduzir risco de transmissão a parceria (Lebrun-Vignes et

al., 2007). Os antivirais diminuem a replicação viral dando mais tempo para o sistema imunológico manifestar-se. O medicamento mais utilizado é o aciclovir, análogo nucleosídeo que penetra em todas as células humanas, infectadas ou não. O mecanismo de ação requer a conversão de aciclovir para trifosfato. A primeira etapa é catalisada pela enzima timidina-quinase que aumenta a afinidade das células infectadas pelo herpes por este antiviral. As quinases celulares completam a fosforilação e o aciclovir incorporado ao DNA do vírus interromperá a replicação viral. Este medicamento tem meia vida curta de uma hora, biodisponibilidade de 20% e concentração mínima inibitória entre um e três mg/l in vivo. Possui efeitos adversos como náusea, diarreia, cefaleia e erupção cutânea. A administração parenteral gera quadro de agitação, alucinação e desorientação. A disfunção renal associada a esta via é prevenida com hidratação adequada e adoção de uma taxa de infusão lenta. As interações medicamentosas surgem com uso concomitante de meperidina, micofelonato e fenitoína (Cernik et al., 2008).

O aciclovir diminui a eliminação viral, acelera a resolução e a cicatrização das lesões e interrompe o aparecimento de novas lesões, todavia, não afeta o tempo para um episódio recorrente e a eliminação viral assintomática persiste, mesmo sob vigência de supressão eficaz. O HSV2 pode ser resistente ao aciclovir, esta situação é expressa pela redução ou ausência da enzima timidina quinase, alteração da atividade da timidina quinase com decréscimo na fosforilação do aciclovir e ou alteração na enzima DNA polimerase viral com consequente diminuição da afinidade do trifosfato de aciclovir (Dongli e Donald, 2012; Krawczyk et al., 2013) (Figura 4).

Por mais de duas décadas, o aciclovir vem sendo usado para profilaxia e tratamento das infecções pelo HSV (Dongli e Donald, 2012). A resistência do vírus HSV ao aciclovir e às drogas orais disponíveis, é uma preocupação crítica, uma vez que ocorre entre cinco e 10% dos pacientes imunocomprometidos e entre 15 e 30% dos transplantados de medula óssea com HSV (Reiter et al., 2002). Estudo holandês analisou 542 HSV isolados e encontrou resistência ao aciclovir em 0,27% de pacientes imunocompetentes, 7% de imunodeprimidos e 14,3% de pós-transplantados de células tronco. Por esta razão, vários fármacos alternativos, entre eles, a melatonina vem sendo estudada para tratamento de doença herpética (Ferreira et al., 2010).

Figura 4 - Mecanismo de ação do aciclovir

Fonte: Rotlinghaus e Whitley, 2007; Whitley e Roizman, 2007

Por mais de duas décadas o aciclovir tem sido usado para profilaxia e tratamento das infecções pelo HSV (Dongli e Donald, 2012). A resistência do vírus HSV ao aciclovir e às drogas orais disponíveis, valaciclovir e famciclovir, é uma preocupação crítica, uma vez que ocorre em cinco a 10% dos pacientes imunocomprometidos e 15 a 30% dos transplantados de medula óssea com HSV (Reiter et al., 2002). Estudo holandês analisou 542 HSV isolados e encontrou resistência ao aciclovir em 0,27% de pacientes imunocompetentes, 7% de

imunodeprimidos e 14,3% de pós-transplantados de células tronco. Por esta razão, vários fármacos alternativos, entre eles, a melatonina tem sido estudada para tratamento da doença herpética (Ferreira et al., 2010).

A melatonina é um hormônio não esteróide produzido na glândula pineal que influencia a regulação do sistema neuroendócrino, controla o ritmo circadiano de diversos processos fisiológicos e o sistema antiapoptótico em diversos tecidos de vertebrados induzidos a morte celular, sendo susceptível ao ciclo claro escuro e estações do ano (Maganhin et al., 2008).

A biossíntese da melatonina deriva da transformação do triptofano em serotonina. Sob ação da enzima triptofano-hidroxilase, o triptofano é transformado em 5 - hidroxitriptofano e na glândula pineal ele sofre ação da 5 - hidroxitriptofano descarboxilase que remove o grupo alfa carboxil terminal do 5 - hidroxitriptofano e o transforma em serotonina. Ela, por sua vez, é catalisada pela N - acetiltransferase resultando na formação da N-acetilserotonina. Nesta fase, a enzima hidrindol -o- metiltransferase catalisa a reação de conversão da N - acetiltransferase em melatonina. Na espécie humana, a maior concentração deste hormônio ocorre durante a infância, diminuindo próxima a puberdade e decrescendo acentuadamente na senectude (Figura 5).

Figura 5 – Biossíntese da melatonina

Fonte: Adaptado de Maganhin et al., 2008

A melatonina é usada há muitos anos na prática clínica, sendo segura e bem tolerada mesmo em doses elevadas, atravessando facilmente a barreira hemato-encefálica (Weishaupt et al., 2000). Ela age no sistema reprodutor feminino influenciando parte hormonal e processos fisiológicos e neoplásicos. Metabolizada no fígado e no cérebro age através de receptores específicos de membrana acoplados à proteína G, conhecidos como MT1 e MT2 (Zlotos et al, 2014). A expressão dos receptores de melatonina em células do sistema imunológico apoia a existência de interações dos sistemas neuroendócrinos –

imune, sendo a melatonina um membro ativo desta rede além de funcionar como um agente imune modulador do sistema imunológico inato e adaptativo; promovendo a liberação de citocinas e modulação do estresse oxidativo (Carrasca et al, 2018). Na década de 90, nos EUA, relataram-se estudos sobre ação antioxidante da melatonina, removendo radicais livres resultantes do metabolismo intermediário (Soares Jr et al., 2003). A base molecular para atribuir uma ação antioxidante à melatonina baseia-se na sua capacidade de doar elétrons em processos não enzimáticos e inibir enzimas da família citocromo 450. Este efeito antioxidante é obtido em doses farmacológicas superiores às encontradas no plasma. No sistema imunológico, a melatonina aparenta vantagens farmacológicas e na imunosenescência, melhorando a atividade dos linfócitos T (Yoo et al., 2016). Observou-se, ainda, a presença de receptores de membrana para melatonina acoplada à proteína G. As células mais responsivas a ela são as CD4+. Nelas este hormônio estimula a produção de interleucina-2 (IL-2) e interferon gama (IFN- γ) (Maestroni, 1998; Tordjman et al., 2017). Por outro lado, a administração de IL-2 inibe a produção de melatonina pela pineal, efeito de retroalimentação negativo (Valero et al., 2007). Publicações indicam propriedades imunomoduladoras da melatonina (Bonilla et al., 2004; Tamtaji et al., 2018). Uma função é induzir a produção de interleucina-1 beta que pode ser benéfica em infecções virais (Pereira e Nunes, 2008). A melatonina demonstrou inibir a enzima do ciclo inflamatório, ligando-se aos sítios ativos de COX1 e COX2, atuando como inibidor natural da função destas enzimas e assim servindo como inibidor endógeno do processo inflamatório (Martinez-Campa et al., 2005). Autores fizeram uma análise da expressão genética, sugerindo como ação da

melatonina a atenuação da resposta imune através do rearranjo de macrófagos (Kadena et al., 2017). Este hormônio atua, portanto, como modulador de respostas imunológicas e inflamatórias quando administrada em dose adequada, entretanto, faltam estudos que comprovem sua real relevância na fisiopatologia destas ações (Gupta et al., 2007) (Figura 6).

No sistema genital feminino, identificaram-se alterações dos níveis séricos de melatonina em mulheres com distúrbios da ovulação. Notaram-se altas concentrações deste hormônio no líquido folicular pré-ovulatório e receptores de membrana MT1 e MT2 nos folículos ovarianos.

Figura 6 – Imunidade e melatonina
Fonte: Adaptado de Szczepanik, 2008

Autores investigam a relação de tumores malignos estrogênios-dependentes com níveis reduzidos de melatonina. Especula-se que a melatonina possa ser classificada como fármaco antiestrogênico, tanto por sua ação na síntese estrogênica com a inibição da aromatase quanto por sua interferência nos receptores de estrogênio. Experimentalmente a melatonina previne promoção e crescimento de tumores mamários em roedores, provavelmente por

interagir com receptores de células epiteliais; aumentando a imunidade local, agindo como fator antioxidante e inibindo a telomerase que é uma enzima associada ao processo de mitose (Pereira e Nunes, 2008).

Outras pesquisas em ratas e hamsters demonstraram alterações no sistema genital (abertura vaginal precoce, hipertrofia ovariana, aumento da cornificação das células vaginais e anovulação crônica) em fêmeas pinectomizadas; sendo estas modificações resolvidas com reposição de níveis da melatonina (Ferreira et al., 2010).

Estudo realizado na Universidade de São Carlos comparou a regressão de sintomas da infecção herpética em dois grupos (A e B). No grupo A, com 70 pacientes, utilizou a dose de 2,5mg de melatonina mais SB-73 que é um composto a base de magnésio, fósforo e ácidos extraídos do *Aspergillus sp.* O grupo B, com 75 pacientes, recebeu tratamento com aciclovir 200mg. 67 pacientes do grupo A (95,7%) relataram regressão completa dos sintomas após sete dias de tratamento. Por comparação, 64 pacientes do grupo B (85,3%) referiram melhora dos sintomas nesse mesmo período. Houve, portanto, uma diferença estatística considerável entre os dois grupos a favor do uso da melatonina – $P < 0,05$ (Pereira e Nunes, 2008).

Estudo publicado em 2017, relata a melhoria da potência terapêutica da vacina de DNA pela melatonina através da indução de células T CD8+ mediadas pela imunidade antitumoral (Rahimi et al., 2017). Este achado é de grande valia clínica, já que vacinas de DNA contra o herpes genital estão sendo estudadas e representam uma nova perspectiva no tratamento das infecções herpéticas (Kaufmann e Flechtner, 2016). Portanto, a melatonina constitui potencial agente

terapêutico em diversas afecções do trato genital, em virtude de suas propriedades metabólicas, imunológicas, antioxidantes e neuroendócrinas (Maestroni, 1998; Soares Jr. et al., 2003; Acuña-Castroviejo et al., 2017; Markus et al., 2018).

Assim, apesar de haver, na literatura, poucos estudos, o uso da melatonina na terapêutica do herpes genital é uma possibilidade real (Martinez-Campa et al., 2005). Por essa razão, desenvolvemos a presente pesquisa, com o propósito de avaliar os efeitos da melatonina no tratamento da doença herpética, comparando-os com os do aciclovir.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Analisar os efeitos e a eficácia de melatonina isolada ou associada ao aciclovir no tratamento do herpes genital recorrente.

2.2 Específicos

- Comparar a ação terapêutica da melatonina isolada ou associada ao aciclovir, em relação a tolerância, resposta e recorrência;
- Avaliar a recidiva após o término do tratamento;
- Avaliar o componente imunológico por imunofenotipagem dos linfócitos T (relação CD4/CD8) obtida pelo método de citometria de fluxo antes e após o uso das medicações;
- Analisar a qualidade de vida antes e após o tratamento por meio do questionário de qualidade de vida SF36;
- Avaliar o quadro de dor antes e após o tratamento por meio da escala analógica de dor EVA e de intensidade de LANNS.

3 MÉTODOS

3.1 Seleção

As pacientes recrutadas para participar do estudo foram convidadas quando atendidas no Ambulatório de Patologia do Trato Genital Inferior (PTGI) da Divisão de Ginecologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), no Centro de Especialidades de Atenção ao Colaborador do HCFMUSP nas Unidades Básicas de Saúde vinculadas à Secretaria Estadual de Saúde de São Paulo e de mulheres que foram convidadas pela mídia (rede social e jornais).

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq, número do Parecer 1.215.208, em 02/09/2015, registro on-line 13099 (Anexo A). Clinical trials número ID 1.215.208.

Todas receberam informações detalhadas do projeto sobre os objetivos, riscos e benefícios das medicações utilizadas. As pacientes que, voluntariamente, concordaram em participar do estudo receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para ser lido (TCLE) e assinado (Anexo B). As participantes entre 15 e 19 anos receberam o Termo de Assentimento (TA) para ser lido e assinado (Anexo C).

As participantes foram selecionadas, conforme os critérios de elegibilidade descritos a seguir.

3.2 Critérios de elegibilidade

3.2.1 Critérios de inclusão

Foram incluídas mulheres com idade entre 15 e 49 anos, com diagnóstico de herpes genital recorrente .

3.2.2 Critérios de exclusão

As gestantes, lactentes e puérperas (até 3 meses pós-parto), mulheres com herpes genital recorrente que tenham usado aciclovir via oral nos últimos 60 dias (*“wash out”*) foram excluídas. Além disso, foram excluídas as portadoras de doenças autoimunes e imunossupressão (congenitas, como as adquiridas), doença hepática em atividade, úlceras vulvares sem diagnóstico, depressão grave (inventário de Beck maior ou igual a 30) ou em uso de medicamentos (antivirais, imunossupressores ou antidepressivos, imiquimode), pacientes com alergia ou resistência ao aciclovir (ou outros medicamentos da mesma classe) ou à melatonina; neoplasia ginecológica; recusa em assinar o TCLE.

3.2.3 Visitas ambulatoriais

A Figura 7 mostra o algoritmo do estudo. Inicialmente, foram encaminhadas 200 pacientes, das quais 110 foram excluídas. Os dois principais motivos foram: idade e depressão grave, conforme pontuação do inventário de Beck (maior ou igual a 30). Assim, foram selecionadas 90 mulheres, que preencheram os critérios de inclusão e exclusão, no período de agosto de 2018 a 2019.

O experimento foi constituído de oito visitas.

Figura 7 – Fluxograma do Estudo

Primeira vista (Seleção)

Foi realizada história clínica com coleta dos seguintes dados: idade, estado civil, escolaridade, profissão, raça, renda familiar, religião, residência, atividade sexual, peso e altura para cálculo do IMC, antecedentes pessoais (medicações

em uso), antecedentes familiares, antecedentes obstétricos, antecedentes sexuais (coitarca, número de parceiros), antecedentes menstruais (método anticoncepcional), tabagismo, etilismo e alergias (aciclovir, valaciclovir, famciclovir e/ou melatonina). Durante a entrevista, indagou-se sobre o intervalo de tempo entre as recorrências e tratamentos anteriores da afecção herpética. Foram também questionadas sobre a qualidade de sono.

O exame dos órgãos genitais externos foi feito com a paciente em posição ginecológica, com iluminação adequada. Foram avaliadas as regiões vulvares: monte pubiano, grandes e pequenos lábios, introito vaginal, períneo e sulcos inguinofemorais.

Verificou-se a presença de lesões vulvares (vesículas, bolhas, pústulas, úlceras, eritema, escoriações e cicatrizes, como mostra a Figura 2). Foi coletada citologia oncológica cervicovaginal em lâminas e enviada ao Setor de Citopatologia do Departamento de Patologia do HCFMUSP.

Foram também solicitados os seguintes exames: hemograma completo (avaliado em equipamento automatizado pelo método coloração panóptica), glicemia (método hexoquinase), sorologias para HIV (método eletroquimioluminescência), VDRL (método floculação), HSV (método PCR e/ou quimioluminescência, aparelho Liaison) efetuados no Laboratório Central do HCFMUSP e imunofenotipagem de linfócitos T (relação CD4/CD8; método citometria de fluxo) realizado no laboratório de citometria de fluxo do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP).

As voluntárias preencheram os questionários de qualidade de vida (SF-36) (Anexo D), inventário de depressão de Beck (Anexo E), escala de sonolência de

Epworth (Anexo F), escala de dor LANNS (Anexo G) e escala visual analógica EVA (Anexo H). Todas receberam e assinaram o Termo de Consentimento e Livre Esclarecido (TCLE) (Anexo B).

Segunda visita (antes do tratamento)

As pacientes elegíveis, selecionadas, receberam os frascos de medicações e as devidas orientações posológicas. Foram orientadas que em caso de qualquer efeito colateral, deveriam contactar o pesquisador principal imediatamente.

Terceira visita (30 dias após o início da medicação)

Relatar efeitos positivos e negativos do tratamento. Na entrevista indagou-se sobre: uso correto da medicação, melhora ou piora das lesões vulvares (se presentes neste período), em quantos dias foi observada melhora do quadro (0 a 3, 4 a 5, 6 a 7, 8 a 14, mais de 15 dias), efeitos adversos (náuseas, vômitos, cefaleia, diarreia, sonolência, febre, coceira no corpo, manchas no corpo), outras ocorrências (sensação de felicidade ou tristeza, melhor ou pior disposição física e psicológica, melhora ou piora do desempenho sexual, alteração de humor);

Avaliar no exame físico o estado de cura, permanência ou surgimento de lesões vulvares.

Quarta visita (60 dias após o início da medicação)

Verificar se a paciente tomou mais de 80% das cápsulas.

Avaliar possíveis efeitos colaterais.

Quinta visita (90 dias após início o da medicação)

Verificar se a paciente tomou mais de 80% das cápsulas

Avaliar efeitos positivos e negativos sobre a medicação usada.

Avaliar no exame físico em relação à cura, permanência ou surgimento de lesões vulvares.

Sexta visita (180 dias após o início da medicação)

Verificar efeitos positivos e negativos sobre a medicação usada.

Avaliar no exame físico em relação à cura, permanência ou surgimento de lesões vulvares.

Preencher os questionários de qualidade de vida (SF-36), inventário de depressão de Beck, escala de sonolência de Epworth, escala de dor LANNS e escala visual analógica EVA.

Coletar hemograma completo, sorologias (HIV, VDRL, HSV), e imunofenotipagem de linfócitos T (relação CD4/CD8).

Sétima visita (30 dias após o término da medicação)

Analisar resultados de exames em relação à avaliação inicial.

Registrar possíveis ocorrências após o término da medicação.

Oitava visita (60 dias após o término da medicação)

Registrar possíveis ocorrências após o término da medicação.

Revelação para participante do medicamento utilizado por ela no projeto
(Tabela 3).

Tabela 3 – Esquematização das visitas ambulatoriais

Tipo de visita	seleção	Antes do tratamento	30 dias após medicação	60 dias após medicação	90 dias após medicação	Fim da medicação	30 dias após término	60 dias após término
TCLE	sim	não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Entrevista/ Anamnese	sim	sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Exame físico	sim	sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Exame laboratorial	sim	não	Não	Não	Não	Sim	Não	não
Questionários	sim	não	Não	Não	Não	Sim	Não	não
Medicação	não	entrega	verificar uso	verificar uso	verificar uso	Término	Não	não
Verificar efeitos +ou-	não	não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	sim

3.3 Mascaramento e Randomização das pacientes

As mulheres foram distribuídas randomicamente em três grupos (Tabela 3), com 30 participantes cada, denominados ABC, BCA e CAB (mascaramento). O conteúdo destes grupos não era conhecido nem pela paciente nem pelo pesquisador até o término do estudo (duplo cego) (Tabela 4).

Tabela 4 – Grupos de estudo e posologia

Grupos	Posologia
ABC Aciclovir (400 mg)	Manhã (10 h): 1 cáps de aciclovir 400mg Noite (22 h): 1 cáps. de aciclovir 400mg
BCA Melatonina (3 mg)	Manhã (10 h): 1 cáps de placebo Noite (22 h): 1 cáps de melatonina 3mg
CAB Aciclovir (400 mg) + Melatonina (3 mg)	Manhã (10h): 1 cáps de aciclovir 400mg. Noite (22h): 1 cáps de melatonina 3mg

Fonte: A pesquisadora

A randomização foi feita por meio de software e a tabela correspondente estará devidamente arquivada na sala da enfermagem no Ambulatório da Clínica Ginecológica.

O registro da randomização de cada voluntária foi colocado em um diário que será avaliado pelo pesquisador no final do estudo. A pessoa responsável pela distribuição da medicação, coloca a etiqueta com nome e registro hospitalar da participante nos envelopes e os guarda em local adequado dentro da própria instituição.

O aciclovir, a melatonina e o placebo foram fornecidos por farmácia de manipulação (ESSENTIA, São Paulo, Brasil), que utilizou as substâncias aciclovir e melatonina previamente analisadas e aprovadas em suas especificações farmacêuticas (Anexos I e J). Ambos na forma de cápsulas, e foram entregues as pacientes pela enfermagem do Ambulatório de Ginecologia. Não havia diferenças no odor, coloração, forma e tamanho entre as cápsulas entregue as pacientes.

Todas as integrantes dos grupos receberam dois frascos, denominados dia e noite, com 180 cápsulas cada. A posologia foi de duas cápsulas ao dia, divididos em duas tomadas: uma cápsula às 10 horas e outra às 22 horas por 6 meses.

Os frascos do grupo ABC continham 180 cápsulas de aciclovir 400mg cada. No grupo BCA, o frasco dia era composto por 180 cápsulas de placebo e o frasco noite com 180 cápsulas de melatonina 3mg. O grupo CAB recebeu 180 cápsulas de aciclovir 400mg no frasco dia e 180 cápsulas de melatonina 3mg no frasco noite.

3.4 Instrumentos

Utilizou-se, no estudo, questionários e escalas, validados para a população brasileira, nos pré e pós-tratamentos.

Inventário de depressão de Beck (Anexo E): é composto por um total de 21 categorias de sintomas e atitudes que revelam comportamentos cognitivos e afetivos relacionados à depressão. A pontuação usada é de zero a nove pontos

(sem depressão), 10 a 15 (depressão leve), 16 a 19 (depressão leve a moderada), 20 a 30 (depressão moderada a grave) (Beck, 1961; Gorenstein e Andrade;1996). Aplicado no início e fim do tratamento.

Escala visual analógica de dor (Anexo H): avalia e quantifica a intensidade da dor. Configura-se por meio de uma régua com 11cm de comprimento, graduada de 1 em 1 cm e numerada de zero (ausência total de dor) a 10 (pior dor possível) (Prince et al., 1983). Preenchida no início, fim e nas crises de recorrência durante a pesquisa.

Escala de sonolência de Epworth (Anexo F): verifica a sonolência (probabilidade de cochilar) por meio de oito questões. Pontuação maior ou igual a 10 sugere uma investigação para sonolência excessiva (Johns, 1991; Bertolazi et al., 2009). Feita no início e final do tratamento.

Questionário de qualidade de vida SF-36 (Medical Outcomes Study 36 – Item Short – Form Health Survey) (Anexo D): consiste em um questionário multidimensional com 36 itens, englobando oito escalas: capacidade funcional, aspectos físicos, dor, estado geral da saúde, vitalidade, aspectos sociais, aspectos emocionais e saúde mental. Seu escore final (*Raw scale*) vai entre zero e 100, onde zero corresponde ao pior estado de saúde geral e 100 ao melhor (Ciconelli et al., 1999).

3.5 Aplicação da citometria de fluxo

Exames laboratoriais foram coletados para avaliar o estado geral da paciente no início e fim da pesquisa. A imunofenotipagem de linfócitos T foi realizada por meio da citometria, de fluxo que é uma tecnologia que analisa simultaneamente diversos parâmetros de células ou partículas em suspensão.

Uma fonte de luz intercepta cada partícula. A dispersão da luz fornece dados relativos ao tamanho e à granulidade da partícula. Moléculas ou estruturas de interesse podem ser estudadas por marcação com fluorocromos ou anticorpos monoclonais acoplados a fluorocromos (Braga et al., 2016).

Algumas recomendações em relação à amostra de sangue periférico são importantes para adequação do exame:

- 1) Não pode conter coágulos nem altos níveis de lipídeos;
- 2) Utilizar anticoagulante EDTA (para não modificar a morfologia);
- 3) Não refrigerar ou aquecer o sangue;
- 4) A contagem de linfócitos totais deve ser feita no próprio setor de citometria de fluxo; e
- 5) Não ultrapassar 24 horas para iniciar a análise.

Os equipamentos utilizados são BD FACSCalibur, BD FACSCanto II e BECKMAN COULTER. As orientações de uso e reagentes são fornecidas pelos fabricantes.

O citômetro FACSCalibur é um equipamento com o laser de Argônio excitação 488nm (15 mW) capaz de detectar além dos parâmetros físicos de tamanho e complexidade ter fluorescências distintas da mesma partícula por meio de filtros 530/30, 585/42, 670LP e o laser Diodo 633nm, que detecta uma fluorescência pelo filtro 661/16. Software de aquisição BD FACSCellquest Pro.

O BD FACSCanto II é constituído de três lasers de excitação 405nm 30mW, 488nm 20mW e 633nm 17 mW de potência. A luz emitida é conduzida via cabos de fibra óptica que garantem menor refração. Sua configuração 4-2-2 possibilita a detecção de oito sinais de fluorescências com comprimentos de ondas distintos da mesma partícula ou célula. O Software de aquisição é o BD FACSDiva 6.1.

O BECKMAN COULTER possui dois lasers que podem excitar a amostra em 488nm ou 633 nm, e permite a leitura de cinco cores e sete parâmetros. Software de aquisição Navios tetra Software (Beckman, 2000).

O processo inicia-se com a seleção de anticorpos, marcados com fluorocromos específicos para o antígeno celular que permite caracterizar a população de células de interesse. Após o processamento da amostra, uma suspensão de células é introduzida no aparelho, fluindo em direção a um laser posicionado no caminho das células (Fang & Ramasamu, 2015). Como o fluxo da célula é laminar e o diâmetro do tubo afunila-se, as células são forçadas a passar em fila única pela luz emitida pelo laser. O fluorocromo ligado ao anticorpo absorve a energia do laser e, rapidamente, emite essa energia em forma de luz, em comprimento de ondas específico, de acordo com o fluorocromo

empregado. A luz emitida é captada por um sistema óptico, que é sensível a diferentes comprimentos de onda, permitindo que um ou mais marcadores sejam lidos ao mesmo tempo, transferindo estas informações a um computador acoplado ao sistema (Teva et al., 2009); conforme a Figura 8.

8.a

8.b

8.c

Figura 8 - Tipos de citômetros. 8.a FACSCalibur 8.b FACSCantoII 8.c Beckman Coulter NAVIOS

Fonte: Laboratório de Citometria de Fluxo – ICESP.

3.6 Coleta de dados e controle de qualidade

A entrevista inicial, a seleção, conforme os critérios de inclusão e exclusão, as explicações, a leitura e o preenchimento do TCLE e os questionários e as visitas ambulatoriais foram executadas pela mesma pesquisadora (C.L.R.), a fim de manter o protocolo estabelecido para este estudo. Todos os dados obtidos na entrevista e questionários, exame físico e laboratorial foram digitados no programa Excel Windows ano 2010.

A organização dos dados, baseou-se no check list do CONSORT 2010 (Consolidated Standards of Reporting Trials, Anexo K). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMUSP, número 1.215.208 (Anexo A) e está registrado na plataforma de ensaios clínicos Clinicaltrials.gov, protocolo 1.215.208.

3.7 Critérios de exclusão do tratamento

Concluíram o estudo 56 pacientes e, as demais, foram excluídas por falha de falha no seguimento ou tratamento (Tabela 5).

3.7.1 Falha de seguimento

As participantes que faltaram às visitas ambulatoriais foram contactadas por meio de contato telefônico ou mensagem de Whatsap para novo agendamento.

Foram consideradas desistências, quando as mulheres não compareceram à consulta reagendada, ou em caso de mudança de número de telefone sem notificação ao pesquisador ou instituição.

3.7.2 Falha de tratamento

Considerou-se, como falha de tratamento, a apresentação de efeitos colaterais atribuídos ao fármaco usado na pesquisa (sem que outro evento tenha ocorrido simultaneamente como uma intoxicação alimentar) com comprometimento de sua rotina diária, tais como sonolência excessiva, cefaleia intensa, desidratação decorrente de vômitos, diarreia e alergias ao medicamento utilizado.

Também representaram falha as participantes que esqueceram de tomar as medicações ou modificaram o horário e/ou intervalo da posologia prescrita.

No caso de reações adversas incapacitantes, “o cego” foi aberto para melhor seguimento da paciente e todo tratamento posterior foi realizado no Ambulatório de Ginecologia do HCFMUSP, Setor de Patologia do Trato Genital Inferior sob os cuidados da pesquisadora principal.

Tabela 5 – Critérios de exclusão (falhas de tratamento e seguimento)

	Falha de seguimento (nº de pacientes)	Falha de tratamento (nº de pacientes)
Efeitos colaterais		01 (Sonolência excessiva)
Gestação durante a pesquisa	02	
Mudança de cidade	03	
Perda da medicação	03	
Uso incorreto da medicação (< 80% das capsulas)	08	
Falta na consulta reagendada sem avisar	10	
Perda de contato telefônico e/ou endereço	07	

Fonte: A pesquisadora

3.7.3 Seguimento pós término da medicação

Realizado com 30 e 60 dias após o término das medicações para avaliar possíveis efeitos colaterais, bem como recidivas do herpes genital.

3.8 Cálculo de tamanho de amostra e análise estatística

Uma amostra inicial com 22 pacientes/grupo foi calculada para avaliar que a melhora clínica ocorreria de forma homogênea para aos grupos em 50% das pacientes. Para esta finalidade, o parâmetro fixado foi erro beta de 80%.

O processo de análise de dados da presente pesquisa iniciou-se com uma exploração descritiva, resultando em tabelas de frequência para variáveis qualitativas que contaram ainda com a inclusão do intervalo de confiança para a proporção (IC 95%). Estatísticas descritivas incluindo média, desvio-padrão, mediana, mínimos e máximos foram calculadas para resumir as variáveis quantitativas contínuas e discretas. O teste Kolmogorov–Smirnov foi utilizado para avaliar a distribuição de probabilidade dos atributos quantitativos.

Para estudar a distribuição das variáveis qualitativas, de acordo com os grupos de intervenção, foi empregado o teste exato de Fischer. O teste de Kruskal-Wallis foi usado para comparação de três ou mais grupos independentes no caso de variáveis quantitativas.

Para testar a hipótese de não modificação das medidas não paramétricas entre as diferentes intervenções no tempo, um modelo de ANOVA de medidas repetidas não paramétrico foi utilizado (Noguchi et al. 2002; Noguchi et al.

2012). Quando as variáveis de interesse representavam medidas paramétricas, um modelo de anova de medidas repetidas convencional foi aplicado (Singh, et al., 2013).

Todos os testes levaram em consideração um α bidirecional de 0,05 e um intervalo de confiança (IC) de 95% e foram realizados com apoio computacional dos softwares R (<https://www.r-project.org/>) pacote nparLD, IBM SPSS 25 (Statistical Package for the Social Sciences) e Excel 2016 ® (Microsoft Office).

4 RESULTADOS

Foram avaliadas 56 mulheres, 19 (33,9%) no grupo melatonina, 15 no grupo aciclovir e 22 (39,3%) no grupo aciclovir com melatonina (26,8%). A média etária foi homogênea entre os grupos, com variabilidade entre 39 anos (± 11 anos) e 41 anos (± 9 anos). Não foram observadas diferenças significativas para idade na menarca, idade primeira relação, número de parceiros sexuais, gestação, paridade, aborto e índice de massa corporal, conforme os dados da Tabela 6.

Tabela 6 - Diferenças entre os grupos em relação a idade na menarca, idade primeira relação, número de parceiros sexuais, gestação, paridade, aborto e índice de massa corporal

	Melatonina		Aciclovir+Melatonina		Aciclovir		p-valor
	Média $\pm$ DP	Mediana;IQR	Média $\pm$ DP	Mediana;IQR	Média $\pm$ DP	Mediana;IQR	
Idade (anos)	39 $\pm$ 11	11;42-32	40 $\pm$ 12	42;30-50	41 $\pm$ 9	42;33-48	0,884
Idade na menarca (anos)	13 $\pm$ 2	2;13-11	13 $\pm$ 2	13;12-14	13 $\pm$ 2	13;12-14	0,950
Idade primeira relação (anos)	18 $\pm$ 3	3;17-16	18 $\pm$ 3	17;15-20	18 $\pm$ 3	18;16-19	0,934
Número de parceiros sexuais	4 $\pm$ 3	3;3-1	5 $\pm$ 4	4;3-5	7 $\pm$ 6	5;2-10	0,850
Gestação	1 $\pm$ 1	1;1-0	1 $\pm$ 1	0;0-2	1 $\pm$ 1	1;0-2	0,943
Número de partos	1 $\pm$ 1	1;1-0	1 $\pm$ 1	0;0-2	1 $\pm$ 1	1;0-2	0,367
Número de abortos	0 $\pm$ 1	1;0-0	0 $\pm$ 1	0;0-0	0 $\pm$ 1	0;0-0	0,628
IMC(Kg/m ²)	24,7 $\pm$ 3,0	24,6;22,0-27,2	26,4 $\pm$ 5,4	25,8;22,5-28,0	27,3 $\pm$ 7,2	24,5;22,8-32,2	0,736

p-valor baseado no teste de Kruskal Wallis IMC= Índice de massa corpórea

As características sociodemográficas avaliadas estão nos dados da Tabela 7, o método anticoncepcional foi heterogêneo entre os grupos: no grupo melatonina, todas as mulheres praticavam algum tipo de prática de

anticoncepção; no grupo aciclovir, esse número foi de seis indivíduos ou 40%, com significância estatística ($p=0,010$).

Tabela 7 Características sociodemográficas das mulheres avaliadas de acordo com os grupos de investigação

	Melatonina n(%)	Aciclovir+Melatonina n(%)	Aciclovir n(%)	p-valor
Estado civil				
Solteira	9(47,4%)	13(59,1%)	7(46,7%)	0,942
Casada	7(36,8%)	7(31,8%)	7(46,7%)	
Divorciada	2(10,5%)	1(4,5%)	1(6,7%)	
Viúva	1(5,3%)	1(4,5%)	0(0,0%)	
Escolaridade				
Não letrado	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	0,17
Ensino fundamental	1(5,3%)	3(13,6%)	0(0,0%)	
Ensino Médio	12(63,2%)	8(36,4%)	11(73,3%)	
Ensino Superior	6(31,6%)	11(50,0%)	4(26,7%)	
Etnia				
Branco	12(63,2%)	16(72,7%)	10(66,7%)	0,317
Amarelo	0(0,0%)	1(4,5%)	0(0,0%)	
Preto	4(21,1%)	0(0,0%)	2(13,3%)	
Pardo	3(15,8%)	5(22,7%)	3(20,0%)	
Indígena	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	
Método anticoncepcional				
Nenhum	0(0,0%)	1(4,5%)	6(40,0%)	0,010
Hormonal	10(52,6%)	9(40,9%)	3(20,0%)	
Condom	8(42,1%)	12(54,5%)	6(40,0%)	
Definitivo	1(5,3%)	0(0,0%)	0(0,0%)	
Hábitos				
Nenhum	15(78,9%)	20(90,9%)	13(86,7%)	0,716
Tabagismo	3(15,8%)	1(4,5%)	2(13,3%)	
Etilismo	1(5,3%)	1(4,5%)	0(0,0%)	
Drogas ilícitas	0(0,0%)	0(0,0%)	0(0,0%)	
Rotina ginecológica				
Não	0(0,0%)	1(4,5%)	0(0,0%)	1,000
Sim	19(100,0%)	21(95,5%)	15(100,0%)	
Renda familiar				
Abaixo de 1	0(0,0%)	5(22,7%)	2(13,3%)	0,201
Entre 1 e 5	15(78,9%)	11(50,0%)	9(60,0%)	
Acima de 5	4(21,1%)	6(27,3%)	4(26,7%)	

p-valor baseado no teste exato de Fischer.

A recidiva de herpes genital em 30 dias ocorreu em 11 mulheres (19,6% IC95% 10,9% a 31,4%) e em 16 (28,6% IC95% 18,0% a 41,3%) em até 60 dias. Na Figura 9, entre os grupos investigados, a recidiva de herpes genital em 30 dias foi verificada em duas mulheres (10,5%) no grupo melatonina, sete (31,8%)

no grupo aciclovir com melatonina e duas (13,3%) no grupo aciclovir. Em relação à recidiva em até 60 dias, houve acréscimo de uma mulher no grupo melatonina e outra no grupo aciclovir com melatonina, e recorrência em mais três mulheres no grupo aciclovir. Todos os grupos apresentaram desempenho semelhante em relação à recidiva em 30 dias ($p=0,228$) e em 60 dias ($p=0,369$).

*p-valor (teste exato de Fischer): 0,228 recidiva em 30 dias

*p-valor (teste exato de Fischer): 0,369 recidiva em 60 dias

Figura 9 - Recidiva de herpes genital em 30 e 60 dias, após o término do tratamento entre os grupos investigados

Os dados da Tabela 8 apresentam a evolução de alguns parâmetros hematológicos e da glicemia de jejum antes e depois do tratamento. Entre os resultados, chama atenção o hematócrito com valores médios maiores no grupo aciclovir, tanto no pré $40,33 \pm 2,6$, como no período pós $40,81 \pm 2,3$ ($p=0,041$). A contagem de leucócitos teve evolução temporal significativa nos três grupos avaliados ($p=0,007$). Nenhum dos parâmetros apresentou interação grupo vs tempo com significância estatística.

Tabela 8 - Evolução de parâmetros hematológicos e glicemia de jejum antes e depois do tratamento de acordo com os grupos de investigação

	Melatonina	Aciclovir+Melatonina	Aciclovir	p-valor		
	Média±DP	Média±DP	Média±DP	Grupo	Tempo	Grupo*Tempo
Hb pré	13,1±1,0	12,9±0,8	13,3±0,8	0,127	0,165	0,166
Hb pós	13,0±0,8	13,1±0,7	13,6±0,7			
Ht pré	38,95±2,6	38,56±2,6	40,33±2,6	0,041	0,756	0,199
Ht pós	37,33±6,4	39,17±1,9	40,81±2,3			
Leucócitos pré	7.536±1.659	6.694±1.779	6.273±1.184	0,180	0,007	0,222
Leucócitos pós	7.640±1.678	7.609±1.741	6.960±1.808			
Plaquetas pré	291±67	273±57	253±42	0,155	0,428	0,824
Plaquetas pós	287±53	266±57	253±48			
Glicemia pré	85,68±8,35	92,32±20,41	90,07±6,52	0,405	0,400	0,892
Glicemia pós	86,89±9,48	92,55±22,5	90,93±8,56			

Plaquetas x 1.000

p-valores baseados no modelo de Anova de medidas repetidas

A relação linfócitos CD4/CD8 teve pouca variabilidade em relação ao momento pré-tratamento (Figura 10). No grupo melatonina, esta medida foi 1,79±0,71 para 1,82±0,73, e no aciclovir, foi de 2,10±0,75 para 2,12±0,88. No grupo aciclovir com melatonina, embora o aumento tenha sido mais acentuado em relação aos anteriores (de 1.90±0,72 para 2.02±0,73), não houve relevância estatística no achado (p=0,451).

p-valores baseados no modelo de Anova de medidas repetidas; grupo: 0,501; tempo: 0,127; e grupo vs tempo: 0,451

Figura 10 – Relação CD4/CD8 e grupos pré e pós tratamento

A Figura 11 apresenta a evolução dos linfócitos antes e depois do tratamento. Embora o grupo melatonina tenha registrado maior evolução média ($2,16 \pm 0,69$ para $2,46 \pm 0,47$), nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos. No entanto, houve significância estatística na evolução temporal observada em todos os grupos.

p-valores baseados no modelo de Anova de medidas repetidas; grupo: 0,333; tempo: 0,043; e grupo vs tempo: 0,387

Figura 11 – Relação linfócitos e grupos investigados pré e pós-tratamento

Entre as escalas avaliadas nenhuma diferença com significância estatística foi observada para Beck e Epworth. No entanto, na escala de Lanns todos os grupos tiveram diminuição dos valores médios e medianos no tempo ($p=0,001$), sem diferenciação entre os grupos ($p=0,188$). A escala visual analógica também apresenta variabilidade no tempo ($p<0,001$) e entre os grupos ($p=0,002$), contudo nenhum dos achados apresentou interação entre o grupo e o tempo significativo, conforme os dados da Tabela 9.

A qualidade de vida dos indivíduos também foi avaliada antes e depois do tratamento, conforme os dados da Tabela 10. Com exceção do componente de limitação por aspectos emocionais, nenhum outro apresentou significância estatística. No domínio referido, o grupo melatonina diminuiu o RTE de 0,604 para 0,394, enquanto no aciclovir observou-se o aumento do RTE de 0,520 para 0,565, na combinação o RTE manteve-se estável.

Tabela 9 - Evolução das escalas de Beck, Lanns, EVA e Epworth antes e depois do tratamento, de acordo com os grupos de investigação

Grupo	Tempo	Média±DP	Mediana	RTE	IC95%RTE		p-valor		
					Inferior	Superior	Grupo	Tempo	Grupo*Tempo
Beck									
Aciclovir+Melatonina	1	11±8	10	0,495	0,396	0,595	0,967	0,700	0,817
Aciclovir+9Melatonina	2	12±10	8	0,496	0,390	0,602			
Melatonina	1	10±7	10	0,497	0,395	0,600			
Melatonina	2	11±7	8	0,491	0,378	0,605			
Aciclovir	1	12±9	8	0,527	0,401	0,650			
Aciclovir	2	11±8	7	0,502	0,378	0,626			
Lanns									
Aciclovir+Melatonina	1	11±7	11	0,617	0,512	0,708	0,188	0,001	0,390
Aciclovir+Melatonina	2	8±6	9	0,500	0,407	0,592			
Melatonina	1	10±7	8	0,602	0,490	0,700			
Melatonina	2	6±5	6	0,430	0,331	0,537			
Aciclovir	1	6±8	2	0,419	0,294	0,559			
Aciclovir	2	5±8	2	0,369	0,252	0,513			
EVA									
Aciclovir+Melatonina	1	6±3	6	0,708	0,607	0,786	0,002	<0,001	0,578
Aciclovir+Melatonina	2	3±3	3	0,502	0,380	0,624			
Melatonina	1	5±3	5	0,564	0,472	0,649			
Melatonina	2	2±3	1	0,282	0,208	0,380			
Aciclovir	1	7±2	7	0,647	0,551	0,727			
Aciclovir	2	5±4	5	0,344	0,251	0,461			
Epworth									
Aciclovir+Melatonina	1	10±4	9	0,590	0,492	0,678	0,170	0,448	0,880
Aciclovir+Melatonina	2	9±4	9	0,571	0,478	0,656			
Melatonina	1	9±6	7	0,487	0,372	0,605			
Melatonina	2	9±6	7	0,481	0,365	0,599			
Aciclovir	1	8±4	7	0,405	0,298	0,526			
Aciclovir	2	8±4	6	0,400	0,285	0,533			

p-valores baseados no modelo de Anova de medidas repetidas não paramétrica

Tabela 10 - Evolução da qualidade de vida antes e depois do tratamento, de acordo com os grupos de investigação

Grupo	Tempo	Média±DP	Mediana	RTE	IC95%RTE		p-valor		
					Inferior	Superior	Grupo	Tempo	Grupo*Tempo
Capacidade funcional									
Aciclovir+Melatonina	1	79±20	85	0,470	0,378	0,567	0,535	0,822	0,817
Aciclovir+Melatonina	2	77±26	85	0,467	0,373	0,566			
Melatonina	1	84±19	90	0,544	0,427	0,654			
Melatonina	2	76±23	85	0,438	0,333	0,552			
Aciclovir	1	81±20	90	0,516	0,382	0,648			
Aciclovir	2	87±17	95	0,598	0,463	0,715			
Aspectos físicos									
Aciclovir+Melatonina	1	159±105	100	0,463	0,376	0,554	0,235	0,122	0,125
Aciclovir+Melatonina	2	152±127	100	0,433	0,337	0,538			
Melatonina	1	234±145	300	0,597	0,466	0,711			
Melatonina	2	134±109	100	0,398	0,303	0,506			
Aciclovir	1	217±148	250	0,571	0,432	0,696			
Aciclovir	2	232±148	250	0,588	0,443	0,715			
Dor									
Aciclovir+Melatonina	1	49±29	42	0,423	0,326	0,529	0,118	0,604	0,769
Aciclovir+Melatonina	2	56±25	48	0,476	0,376	0,579			
Melatonina	1	57±30	52	0,489	0,373	0,606			
Melatonina	2	55±25	61	0,468	0,365	0,575			
Aciclovir	1	67±25	62	0,584	0,454	0,700			
Aciclovir	2	69±29	72	0,620	0,481	0,736			
Estado Geral de Saúde									
Aciclovir+Melatonina	1	57±21	57	0,420	0,319	0,532	0,809	0,153	0,328
Aciclovir+Melatonina	2	65±16	62	0,522	0,425	0,617			
Melatonina	1	63±23	67	0,521	0,396	0,643			
Melatonina	2	63±14	62	0,507	0,411	0,602			
Aciclovir	1	62±23	65	0,500	0,353	0,647			
Aciclovir	2	65±19	67	0,549	0,426	0,663			
Vitalidade									
Aciclovir+Melatonina	1	48±21	50	0,445	0,340	0,557	0,595	0,730	0,797
Aciclovir+Melatonina	2	50±19	50	0,464	0,372	0,561			
Melatonina	1	52±22	55	0,513	0,380	0,643			
Melatonina	2	55±14	55	0,547	0,442	0,645			
Aciclovir	1	54±16	55	0,538	0,419	0,652			
Aciclovir	2	54±15	50	0,521	0,403	0,635			
Aspectos sociais									
Aciclovir+Melatonina	1	57±26	63	0,427	0,337	0,526	0,986	0,404	0,065
Aciclovir+Melatonina	2	70±23	63	0,567	0,471	0,655			
Melatonina	1	67±26	63	0,519	0,401	0,634			
Melatonina	2	64±22	63	0,496	0,396	0,597			
Aciclovir	1	64±32	63	0,511	0,370	0,651			
Aciclovir	2	62±27	63	0,478	0,350	0,611			
Aspectos emocionais									
Aciclovir+Melatonina	1	171±142	100	0,475	0,372	0,581	0,656	0,200	0,045
Aciclovir+Melatonina	2	158±127	100	0,470	0,378	0,566			
Melatonina	1	226±145	233	0,604	0,481	0,710			
Melatonina	2	125±123	100	0,394	0,293	0,509			
Aciclovir	1	191±155	100	0,520	0,383	0,653			
Aciclovir	2	207±144	200	0,565	0,436	0,683			
Saúde Mental									
Aciclovir+Melatonina	1	54±21	54	0,480	0,374	0,588	0,817	0,733	0,405
Aciclovir+Melatonina	2	58±20	56	0,531	0,435	0,624			
Melatonina	1	57±20	56	0,533	0,417	0,644			
Melatonina	2	57±18	52	0,506	0,391	0,621			
Aciclovir	1	56±20	64	0,497	0,369	0,626			
Aciclovir	2	52±19	44	0,438	0,320	0,566			

p-valores baseados no modelo de Anova de medidas repetidas não paramétrica

5 DISCUSSÃO

A melatonina é um hormônio que tem ação em várias órgãos e tecidos. É conhecida como regulador do ciclo circadiano, pois leva a informação ao organismo sobre o ciclo claro e escuro. Sua produção é sobretudo pela pineal, que é regularizada pelo núcleo supraquiasmático que tem uma conexão com a retina (Britto et al., 2020). Contudo, este hormônio tem outras propriedades atuando pelos receptores de membranas, os mais estudados MT1 e MT2, mas também pode ter sua ação influenciada por proteínas intracitoplasmáticas e até órgãos receptores. Entre as ações, podem-se salientar as do sistema imunológico, inflamatório e apoptótico (Ferreira et al., 2010) que justificam sua aplicação clínica em infecções, como no herpes genital. Nosso estudo mostrou que os efeitos desta substância isoladamente teriam uma propriedade semelhante ao tratamento do aciclovir no herpes genital recidivante. O herpes genital recorrente é a infecção crônica que ocorre por reativação do vírus HSV-2 em geral, mas também pode ser atribuído ao tipo 1 e pode ser precedido por sintomas prodrômicos, como prurido leve, queimação, mialgias, pontadas nas pernas, quadris e região anogenital. As lesões acometem, comumente, a mesma localização da lesão inicial, em zonas inervadas pelos nervos sensitivos sacrais (Geller et al., 2012). Nos Estados Unidos da América, calcula-se que 50 milhões de indivíduos tenham herpes genital (Bradley et al., 2014), o que é uma preocupação de Saúde Pública, tanto pelas consequências aos pacientes em razão da interferência em suas atividades diárias, como pelos custos de tratamento.

Os fármacos antivirais proporcionam benefícios clínicos para à maioria dos pacientes sintomáticos, sendo, portanto, a base do tratamento. O

aconselhamento sobre a história natural do herpes vírus (HSV) genital, transmissão sexual e perinatal e métodos para reduzir a transmissão é parte integrante do manejo clínico, mas não resolve o quadro clínico (Gilbert e Wyand, 2009).

Os medicamentos antivirais sistêmicos podem controlar parcialmente os sinais e sintomas do herpes genital quando usados para tratar os primeiros episódios clínicos e recorrentes ou quando empregados como terapia supressiva diária (Kłysik et al., 2020). No entanto, esses medicamentos não erradicam o vírus latente nem afetam o risco, a frequência ou a gravidade das recorrências após a suspensão do medicamento, o que é uma preocupação do clínico. Os ensaios randomizados indicaram que três medicamentos antivirais fornecem benefício clínico para às mulheres com infecção do HSV genital: valaciclovir, famciclovir e aciclovir (Goldberg et al., 1993; Fife et al., 1994; Bodsworth et al., 1997; Fife et al., 1997; Mertz et al., 1997; Diaz-Mitoma et al., 1998; Reitano et al., 1998; Chosidow et al., 2001; Leone et al., 2002; Wald e Link, 2002; Romanowski et al., 2003; Corey et al., 2004; Aoki et al., 2006, Wald et al., 2006; Bartlett et al., 2008). Apesar dos bons resultados destes trabalhos clínicos, o grande desafio no tratamento do HSV genital ainda é a recidiva, pois o HSV se oculta do sistema imunológico do hospedeiro, ficando incubado nos nervos (neurônios sensoriais e nos gânglios periféricos), estabelecendo assim um período de latência com baixa replicação e não exposto a resposta imunológica específica do tipo celular (Whitley e Roizman, 2001). Nesta fase, o HSV não é atingido pelos medicamentos antivirais, como o aciclovir e seus análogos (Groves, 2016), mas pode estar sendo transmitido e, ao mesmo tempo, o vírus

pode desenvolver resistência aos fármacos convencionais neste período, o que pode culminar com insucesso terapêutico na próxima reativação viral.

Atualmente, a terapia antiviral para herpes genital recorrente, visa a supressão para reduzir a frequência de, ou episodicamente para melhorar ou encurtar a duração das lesões. Algumas pessoas, incluindo aquelas com surtos recorrentes leves ou infrequentes, beneficiam-se da terapia antiviral; portanto, as opções de tratamento devem ser testadas. Muitas pessoas preferem a terapia supressiva com aciclovir em dose baixa (400mg ao dia, em duas tomadas ao dia, por seis meses, por via oral) que tem a vantagem adicional de diminuir o risco de transmissão genital do HSV-2 a parceiros suscetíveis (Romanowski et al., 2003; Corey et al., 2004), mas pode aumentar o risco de resistência ao tratamento na recidiva.

A terapia supressiva com aciclovir reduz a frequência de recorrências de herpes genital entre 70% e 80% dos pacientes que apresentam recidivas frequentes (Diaz-Mitoma, 1998; Mertz et al., 1997; Romanowski et al., 2003) e outras que receberam esta terapia relataram não ter experimentado outro surto sintomático. O tratamento ainda é muito eficaz em pacientes com recorrências menos frequentes (Mertz et al., 1997; Diaz-Mitoma et al., 1998; Romanowski et al., 2003). A segurança e a eficácia a longo prazo, foram bem documentadas no trabalho que avaliou a terapia diária com aciclovir por até seis anos (Goldberg et al., 1993). Portanto, quando há aderência ao tratamento, a qualidade de vida é melhorada, sobretudo, em pacientes com recorrências frequentes que recebem terapia supressiva (Bartlett et al., 2008). Contudo, a adesão nem sempre é fácil. Além disso, quase 30% das mulheres não respondem ao tratamento (Cernik et

al., 2008), trazendo preocupação ao clínico e levando à diminuição da qualidade de vida para estas mulheres. Portanto, nosso estudo procura uma alternativa com a melatonina.

Outro inconveniente do tratamento antiviral prolongado é o custo elevado, impedindo seu uso a longo prazo por vários pacientes. Além disso, outras mulheres consideram o tratamento ineficaz ou difícil de aderir, pois, não estão dispostas a começar uma terapia para uma afecção que é difícil de curar e por muito tempo, com doses diárias (Romanowski et al., 2008; Bonar, 2009).

O manejo clínico da resistência antiviral do HSV continua sendo desafiador e maior, ainda, quando há uma coinfeção por HIV, pois a recidiva é mais frequente e o quadro clínico mais exuberante (Schacker et al, 1998). O grande ponto é a resistência do HSV ao tratamento (Sauerbrei e Bohn, 2020; Christophers et al., 1998). Portanto, em todos os casos descritos anteriormente, há a necessidade de alternativas e a melatonina parece ser promissora como relatada em trabalho clínico anterior (Nunes e Pereira, 2008).

Em estudo realizado pela Universidade de São Carlos, a melatonina pareceu ser uma opção terapêutica quando associada a um composto à base de magnésio, fósforo e ácidos extraídos do *Aspergillus* para tratar o herpes genital recidivante. Eles encontraram 95,7% das usuárias do composto com melhora em relação a 85,3% do grupo que recebeu aciclovir e ainda relataram regressão dos sintomas no mesmo período. Portanto, o efeito do composto foi superior ao aciclovir. Nosso estudo usou aciclovir 800mg ao dia no grupo com este fármaco isolado e 400mg associado com melatonina ambos por seis meses. Contudo, aquele estudo não provou que a melatonina isoladamente seria

responsável por este efeito, pois havia outras substâncias no composto que podem ter efeito sobre o herpes, como os ácidos graxos extraídos do *Aspergillus sp* (Nunes e Pereira, 2008). Portanto, nosso estudo mostra uma evidência maior sobre a melatonina no herpes genital.

Os fungos do *Aspergillus sp* têm metabólitos biologicamente ativos encontrados nos ácidos graxos, que têm atividade inibitória contra o vírus do mosaico do tabaco, um membro típico do grupo de vírus de plantas do tobamovírus (Wu et al., 2009). Outro estudo mostra que o *Aspergillus* é capaz de induzir resposta celular e humoral em animais, pois metabólitos lipídicos deste fungo podem levar à imunomodulação, o que pode influenciar no processo inflamatório (Shahan et al., 1998; Krysinska-Traczyk e Dutkiewicz, 2000). Estes fatos podem ter influenciado os resultados de Nunes e Pereira sobre o herpes vírus (Nunes e Pereira, 2008). Por esta razão, decidimos fazer um grupo com melatonina apenas e que mostrou ter a mesma eficácia do o aciclovir isoladamente em nosso estudo. Além disso, encontramos o mesmo efeito do aciclovir nos questionários de qualidade de vida e parâmetros clínicos do estudo. Todavia, há algumas variáveis que podem ter influenciado os resultados, como o uso de contraceptivos.

Em relação aos métodos anticoncepcionais, 40% das participantes do grupo aciclovir isolado não reportaram uso de nenhum método anticoncepcional. Este fato pode influenciar o resultado de nosso estudo. Há estudos que mostram que o herpes pode ter uma coinfeção com outros agentes infecciosos, como HIV, sífilis, clamídia e gonococo (Li et al., 2016; Penello et al., 2010). As pacientes que não usam método de barreira podem ter maior risco ao adquirir

estes agentes o que pode influenciar nos resultados piores que aqueles encontrados no grupo do aciclovir. Contudo, nosso estudo não mostrou que as mulheres com este fármaco isolado teriam maior recidiva. Além disso, na avaliação final não se diagnosticou outras infecções sexualmente transmissíveis. Por outro lado, as mulheres que usaram contraceptivos hormonais podem ter interação tanto com a melatonina (Soares Jr. et al., 2003), mas não com o aciclovir (Polis et al., 2016). Contudo, o emprego de sistema com progestagênio isoladamente, como a medroxiprogesterona, pode aumentar o risco discretamente de adquirir outras infecções sexualmente transmissíveis (Polis et al., 2016).

No início do estudo, nossa expectativa era que a combinação dos fármacos aciclovir e melatonina poderia trazer vantagens no manejo do herpes recidivante, pois têm mecanismos distintos para debelar a infecção (De Clercq, 2013; Bonilla et al., 2004;). O grupo aciclovir com melatonina não mostrou maior eficácia, quando comparado aos outros. Este fato pode ser decorrente do efeito inibitório da melatonina sobre a enzima timidina quinase (Steinhilber et al., 1995), que é necessária para a ação do aciclovir no combate ao herpes vírus (Fyfe et al., 1978; Dongli e Donald, 2012) portanto, a melatonina pode diminuir a eficácia do aciclovir, interferindo em sua via de atuação.

O mecanismo de ação da melatonina sobre a enzima timidina quinase pode ser por meio de seu receptor. Sabe-se que melatonina pode agir pelos receptores de membrana ou por outros receptores, como dois subtipos de receptor Z retinóide (RZR α e β) e as três variantes de outros receptores relacionados ao retinoide (ROR α_1 , α_2 e α_3). Estes receptores estão

nrelacionados com a resposta inflamatória. Especificadamente, os RZR α atuam na 5-lipoxigenase, que é uma enzima chave na biossíntese de leucotrienos, que são conhecidos por serem mediadores alérgicos e inflamatórios (Glebezdina et al., 2018; Kim et al., 2014). Esta enzima com o RZR regulam a promoção da timidina quinase, reduzindo-a. Esta propriedade da melatonina poderia justificar o motivo da combinação ser menos eficaz na recidiva do herpes vírus após o tratamento (Reiter et al, 2002). Além disso, os casos de resistência da infecção do vírus herpes ao aciclovir estão relacionados, com a redução da atividade da enzima timidina quinase (Dongli e Donald, 2012).

Independentemente do tipo de tratamento em nosso estudo, houve aumento dos leucócitos totais e dos linfócitos no final do estudo. Estas células são responsáveis pelo combate ao vírus (Junqueira e Carneiro, 2013). Os linfócitos T CD4 ajudam os linfócitos B a eliminar infecções, sendo o primeiro alerta do sistema imune. Já os linfócitos T CD8 também conhecidos como supressores ou citotóxicos, diminuem a atividade de outros tipos de linfócitos e, por isso, encontram-se aumentados em casos de HIV (Gulzar e Copeland, 2004; Buggert et al., 2018). Compostos endógenos ou exógenos que alterem as funções fisiológicas dos linfócitos T podem modular passos importantes da resposta imune. O triptofano exerce um papel importante na manutenção da homeostasia dos linfócitos T e é o precursor da síntese de melatonina mostrando, portanto, uma correlação entre estes dois compostos (Pedrosa, 2007). Contudo, não vimos diferenças significantes entre os grupos, nem em relação aos resultados basais de nosso estudo sobre o herpes. Os linfócitos T CD4 e CD8 apresentam a função de identificar, combater e destruir bactérias,

fungos e vírus. A relação CD4/CD8 determina a quantidade no sangue de linfócitos com marcadores de superfície, no caso de ausência de infecção viral, como o HIV, esta relação é maior ou igual a 1 (Serrano-Villar et al, 2014). Durante a progressão de uma infecção seu índice diminui significando piora relativa da afecção (Sainz et al., 2013; Lu et al., 2015) em nosso estudo não houve mudança significativa desta relação nos diferentes grupos durante o tratamento. Mas, notamos que a relação CD4/CD8 tendeu a se elevar no grupo melatonina com aciclovir. Possivelmente, isto pode ter atenuado a recidiva neste grupo, o que maior ainda. Portanto, há necessidade de um acompanhamento a longo prazo para verificar este comportamento dos linfócitos.

Em relação aos questionários usados nesta pesquisa, utilizou-se a Escala Visual Analógica (EVA) que, atualmente, é o instrumento de avaliação de dor mais utilizado. A EVA é de fácil e rápida aplicação. Tem um bom entendimento por parte do paciente, sendo uma forma adequada para estimar a intensidade da dor presente (Huskisson, 1974, Gift, 1989; Jensen et al., 1994). Mas, é um instrumento unidirecional, ou seja, analisa apenas a intensidade da dor, desconsiderando outros aspectos dessa dor, como tipo, irradiação e interferência em outras atividades (Gift, 1989; Jensen et al., 1994). É uma escala de resposta psicométrica, um instrumento de medição para características subjetivas ou atitudes que não possam ser mensuradas diretamente. Portanto, pode ter influência sobre o estado psíquico das pacientes. Independente do grupo, as nossas pacientes tinham sintomas depressivos leves a moderados e isto pode ter influenciado nos resultados, em especial, da melatonina (Valdés-Tovar et al., 2018). Por esta razão, foi empregada a escala Beck em nosso

estudo para avaliar esta influência. Este instrumento não mostrou diferenças significantes no começo e nem ao final do tratamento entre as participantes.

Em relação a sintomas depressivos, há trabalhos que mostram a ação da melatonina de forma indireta. Assim, os autores avaliaram os níveis de melatonina salivar, tanto noturna como diurna em participantes com quadros de depressão. Os mesmos autores sugerem que os níveis de melatonina na saliva à noite são moderadamente menores em pacientes com transtornos de ansiedade (Ito et al.,2013). Sabe-se que muitas mulheres com HSV recidivante têm quadros depressivos e de ansiedade (Stumpf et al.,2006). No entanto, outros estudos mostram que a influência da melatonina não seria tão relevante em casos de depressão mais acentuados (Paul et al.,2019). Portanto, o aumento da melatonina pode influenciar os resultados do humor depressivo em mulheres e isto pode repercutir sobre o sistema imunológico (Cardinali, 2008). Isto pode justificar a melhora significativa no grupo de melatonina no domínio dos aspectos emocionais do questionário de qualidade de vida aplicado neste estudo. Contudo, não encontramos diferenças significantes na pontuação total deste questionário entre os grupos.

Na avaliação da qualidade de vida, foi utilizado o questionário SF-36 (Short-Form Health Survey), que é instrumento multidimensional (Ware e Sherbourne, 1992). A avaliação dos resultados foi feita mediante a atribuição de escores para cada questão, que foram transformados em uma escala de zero a 100, onde zero correspondeu a uma pior qualidade de vida e 100 a uma melhor qualidade de vida. Cada dimensão foi analisada separadamente. As medidas de avaliação genérica de saúde disponíveis não são capazes de dizer

exatamente para ao profissional da saúde o que fazer, entretanto, são capazes de sugerir se os pacientes conseguem executar as determinadas atividades que, normalmente, fazem e/ou como se sentem quando as estão praticando (Vieira et al, 2007). As aplicações repetidas desses instrumentos no decorrer de um período podem definir a melhora ou piora do paciente em diferentes aspectos, tanto físicos como emocionais, tornando-se úteis para avaliação de determinada intervenção. Em geral, não vimos diferenças entre os grupos, com exceção do domínio relacionado a transtorno depressivo.

A versão do questionário empregado foi traduzida e validada no Brasil pela investigadora Ciconelli et al. (1999), englobando oito aspectos da saúde: 1) limitação por aspectos físicos - referem-se a limitações físicas para o desenvolvimento de atividades diárias no ambiente de trabalho. Neste estudo, não houve diferenças entre os grupos; 2) limitação por aspectos emocionais - retratam o impacto dos aspectos psicológicos no bem-estar do indivíduo; 3) - Aspectos sociais - analisam a integração do paciente em atividades sociais.; 4) Capacidade funcional - mostra a presença e extensão de limitações. Nesta pesquisa, não ocorreu diferenças entre os grupos estudados. 5) Dor – avalia a intensidade e a interferência nas atividades cotidianas. Sem diferenças na qualidade de vida deste estudo; 6) Estado geral de saúde – analisa os níveis de ansiedade, depressão, alterações no comportamento e bem-estar psicológicos. Sem diferença estatística significativa; 7) Vitalidade - verifica os níveis de energia e fadiga e; 8) Saúde Mental.

As mulheres, especialmente, as jovens expostas a graves estresses psicossociais no trabalho e na família são as mais afetadas pelo HSV genital

recorrente (Brentjens et al., 2003), o que afeta em muito a pontuação inicial das mulheres, e dificulta muito o emprego desta escala para avaliar a melhora neste questionário. Além disso, há alterações crônicas que são difíceis de resolver a curto prazo em relação aos itens deste questionário, pois há trabalhos que mostram melhora significativa após cinco anos de terapia supressiva (Goldberg et al., 1993). Portanto, a avaliação a longo prazo sobre o efeito destes tratamentos é importante.

Deve-se levar em conta que as próprias recorrências em si podem causar altos níveis de estresse emocional, ressaltando que um terço dos pacientes tem mais de seis recidivas por ano, isto tem impacto direto sobre a qualidade de vida (Goldberg et al., 1993). Outro aspecto é que as mulheres afetadas também têm problemas de relacionamento com seus parceiros sexuais em razão das crises, o que agrava mais os aspectos emocionais (Mahmood et al., 2016; Posadzki et al., 2018; Satyanarayanan et al., 2018; Carrascal et al., 2018; Cipolla-Neto e Amaral, 2018; Mahmood, 2019). Todos estes aspectos podem levar à reclusão das mulheres que têm dificuldade para retomar suas atividades rotineiras, profissionais e sociais. Portanto, continuar o seguimento destas mulheres a longo prazo, pode ser mais elucidativo sobre o impacto dos tratamentos sobre a qualidade de vida (Martins et al., 1996). Todavia, o domínio relacionado aos aspectos emocionais foi o que evidenciou uma melhora mais precoce, sobretudo no grupo melatonina.

Nosso estudo apresenta algumas limitações: a) a perda de pacientes durante o estudo, como 16 participantes que não compareceram às visitas agendadas, duas desistiram por estarem gestantes, uma apresentou quadro de

sonolência excessiva, três perderam a medicação, 10 não fizeram os exames de controle no período correto e duas não entregaram os questionários finais. Isto se justifica, pois, todos os tipos de tratamento empregados são a longo prazo, o que diminui naturalmente a adesão ao tratamento (Tavares et al., 2016); b) alguns questionários podem ter interpretação subjetiva pela paciente, o que pode afetar a compreensão da participante, bem como seu resultado; c) há influência de transtornos psicossociais em razão do aspecto recidivante e da crônica da infecção do HSV que podem influenciar na resposta clínica durante o tratamento.

Deve-se salientar que a grande força deste estudo é que avaliamos diretamente a melatonina sobre o HSV genital, pois outro estudo que avaliou um composto (Nunes e Pereira, 2008), mostra a eficácia sobre o herpes vírus recidivante.

Em suma, a melatonina pode ser considerada uma opção terapêutica no tratamento do herpes genital recorrente, em especial nas mulheres com resistência aos fármacos antivirais, como o aciclovir. Mas, nosso estudo demonstrou que sua associação com aciclovir (medicação padrão no tratamento do HSV) não teria vantagem em relação aos medicamentos isoladamente. Entre os fatores que podem ter influenciado, seria a ação inibitória da melatonina sobre a enzima timidina quinase, que é importante para a ação do aciclovir sobre a infecção herpética. Novos estudos são necessários para melhor compreensão dos efeitos imunológicos da melatonina sobre a infecção do herpes genital recorrente.

6 CONCLUSÕES

Nossos dados permitem as seguintes conclusões:

- a) A melatonina foi bem tolerada e mostrou ter eficácia semelhante à do aciclovir isoladamente;
- b) A associação aciclovir e melatonina não mostrou-se mais eficaz que os fármacos isolados;
- c) A relação CD4/CD8 (linfócitos T) teve pouca variabilidade entre os grupos durante o estudo;
- d) No questionário SF36, observou - se diminuição das limitações dos aspectos emocionais no grupo melatonina, com melhora da qualidade de vida;
- e) No questionário EVA, a intensidade da dor relatada pelas participantes diminuiu em todos os grupos.

Anexo A - Aprovação do Projeto **PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Efeitos da melatonina no tratamento do herpes genital

Pesquisador: José Maria Soares Junior

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 40862215.0.0000.0068

Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.215.208

Apresentação do Projeto:

Herpes genital é uma infecção comum e crescente em todo mundo. A incidência anual nos Estados Unidos é de 1,75 em cada 1000 habitantes. Seu agente etiológico é o herpes virus simples cepas tipo 1 e 2. O tratamento clássico é feito com aciclovir, que diminui o tempo da doença, previne as erupções mas não tem efeito curativo. Contudo estudos mostraram resistência ao aciclovir, estimulando pesquisas de novos fármacos para o tratamento dessa patologia. Autores apontam a melatonina como agente terapêutico na doença herpética devido a sua ação moduladora de respostas imunológicas e inflamatórias quando administrada em doses adequadas.

A melatonina é um hormônio não esteróide (indolamina), produzido na glândula pineal que influencia a regulação do sistema neuroendócrino, controla o ritmo circadiano de diversos processos fisiológicos e o sistema antiapoptótico em diversos tecidos. A melatonina é possível agente terapêutico nas diversas patologias do trato genital, ressaltando suas propriedades metabólicas, imunológicas, antioxidantes e neuroendócrinas. Os efeitos da melatonina na terapêutica do herpes genital é uma possibilidade, porém, há poucos trabalhos na literatura que comprovem sua eficácia.

As pacientes serão recrutadas e atendidas no Ambulatório de Ginecologia Geral do Hospital das Clínicas da FMUSP. As voluntárias receberão informações sobre o estudo e assinarão o termo de

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5ª andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 1.215.208

consentimento livre e esclarecido (TCLE) Após, será entregue frasco identificado por letras (abc, bca, ou cab) com respectivo fármaco sem que paciente e investigador conheçam sua natureza. Somente será revelado qual fármaco foi utilizado por cada mulher ao final do estudo. O aciclovir comprimido será fornecido pela farmácia do HCFMUSP e a melatonina comprimido será comprada, com recurso próprio, em farmácia importadora e entregue sem custo algum para as participantes. As pacientes serão divididas em três grupos, 30 pacientes por grupo. Grupo ABC receberá um frasco com 360 comprimidos de aciclovir 200 mg. As integrantes do grupo A serão orientadas a tomar 2 comprimidos de aciclovir 200mg (400 mg) duas vezes ao dia por 90 dias. Grupo BCA receberá 90 comprimidos de 3mg de melatonina, a posologia a ser utilizada é de 1 comprimido ao dia por 90 dias. Grupo CAB receberá 90 comprimidos de 3 mg de melatonina, cuja dose será de 1 comprimido ao dia e 360 comprimidos de aciclovir 200mg a ser tomado duas vezes ao dia por 90 dias. Na primeira e na quarta consultas, serão coletadas amostras de sangue para CD4+, CD8+, Interleucina-2 e sorologia para herpes. Irão ainda ao laboratório de investigação médica (LIM 58) da Disciplina de Ginecologia da FMUSP para coleta de material para análise em PCR real time para o diagnóstico de herpes. Responderão ao questionário de qualidade de vida (SF-36) na primeira e quarta consulta médica e em todas consultas relatarão através de 5 perguntas simples a sua impressão subjetiva do tratamento recebido. Critério de Inclusão: Serão incluídas mulheres entre 15 e 49 anos com diagnóstico clínico de herpes genital e exames laboratoriais, PCR em real time e sorologia, que comprovem a doença. Critério de Exclusão: Serão excluídas mulheres abaixo de 15 ou com mais de 49 anos, portadoras de imunodeficiências e gestantes. Serão selecionadas, portanto, mulheres imunocompetentes entre 15 e 49 anos com diagnóstico clínico e laboratorial de herpes genital.

Objetivo da Pesquisa:

Geral : avaliar efeitos e eficácia da melatonina no tratamento do herpes genital.

Específico : comparar ação terapêutica da melatonina a do aciclovir , verificando tempo de melhora das lesões e intervalo entre recorrências .

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Durante a coleta de sangue poderá ocorrer dor local e eventual hematoma e equimose local. Risco de alergia ao aciclovir ou a melatonina.

Benefícios: utilização da melatonina no tratamento do herpes genital. Opção de medicação frente

Endereço:	Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar		
Bairro:	Cerqueira Cesar	CEP:	05.403-010
UF:	SP	Município:	SAO PAULO
Telefone:	(11)2661-7585	Fax:	(11)2661-7585
		E-mail:	cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 1.215.208

aos casos não responsivos ao aciclovir.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

As modificações solicitadas em parecer anterior foram atendidas. Não apresenta óbices éticos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE foi aprimorado e as pendências anteriores foram atendidas.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	carta de anuência LIM 58.doc	04/12/2014 12:02:38		Aceito
Outros	aprovação CEPDOG.pdf	08/01/2015 10:52:24		Aceito
Outros	cadastro on line.pdf	08/01/2015 10:52:39		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_432398.pdf	16/01/2015 09:36:08		Aceito
Folha de Rosto	folha de rosto assinada.pdf	22/01/2015 14:28:37		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_432398.pdf	22/01/2015 14:29:01		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_432398.pdf	13/04/2015 12:11:29		Aceito
Outros	resposta parecer 956.419 de 10 02 2015.pdf	31/07/2015 11:24:32		Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
 Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
 UF: SP Município: SÃO PAULO
 Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappelq.adm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 1.215.208

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_P ROJETO_432398.pdf	31/07/2015 11:41:12		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto corrigido 14 08.doc	14/08/2015 11:20:20		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE CAPPESQ corrigido 14 08.doc	14/08/2015 11:20:39		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_P ROJETO_432398.pdf	14/08/2015 11:21:25		Aceito
Outros	carta_resposta_14_08_15.pdf	25/08/2015 10:31:06	José Maria Soares Junior	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_P ROJETO_432398.pdf	25/08/2015 10:31:38		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 04 de Setembro de 2015

Assinado por:
Joel Faintuch
(Coordenador)

Anexo B - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. 1, NOME: _____
 _DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº _____, SEXO: M ☐ F ☐
 DATA NASCIMENTO: ____/____/_____
 ENDEREÇO _____ Nº _____ APTO: _____
 BAIRRO: _____ CIDADE _____
 CEP: _____ TELEFONE: DDD (____) _____

2, RESPONSÁVEL LEGAL _____
 NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc,)
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº _____, SEXO: M ☐ F ☐
 DATA NASCIMENTO: ____/____/_____
 ENDEREÇO _____ Nº _____ APTO: _____
 BAIRRO: _____ CIDADE _____
 CEP: _____ TELEFONE: DDD (____) _____

DADOS SOBRE A PESQUISA

1, TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Os efeitos da melatonina no tratamento do herpes genital,
 PESQUISADORES: Cristiane Lima Roa crmsp 91405 - Pós-graduanda strictu sensu da Faculdade de
 Medicina da USP,
 Dr José Maria Soares Júnior crmsp 82551 - Professor adjunto livre-docente da Disciplina de Endocrinologia
 Ginecológica da USP,
 UNIDADE DO HCFMUSP: Departamento de Ginecologia,

3, AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:RISCO MÍNIMO ☐RISCO MÉDIO ☐RISCO BAIXO ☒RISCO MAIOR ☐

4, DURAÇÃO DA PESQUISA: 6 meses,

Rubrica do participante de
 pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador_____

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP

Descrição

As informações sobre este estudo são fornecidas para sua participação voluntária nesta pesquisa. O herpes genital é uma doença comum que atinge mulheres jovens entre 15 e 55 anos, Causada pelo vírus chamado herpes simplex tipo 1 e 2. Ele pode causar queimação, coceira, dor, bolhas e feridas nos genitais. Isto causa desconforto e mal-estar além de poder passar de uma pessoa para outra na relação sexual e durante o parto da mãe para o bebê. Atualmente o tratamento desta doença é feita com a medicação aciclovir. O objetivo deste trabalho é o uso da melatonina, medicação utilizada para o sono, para tratar o herpes genital. A melatonina já foi estudada e não se sabe, ainda, seu efeito no tratamento do herpes genital. Ela será comparada ao tratamento conhecido com remédio aciclovir,

As 90 pacientes participantes da pesquisa serão divididas em 3 grupos de 30 pessoas, que receberão o nome de grupo ABC, BCA e CAB. O grupo ABC receberá 360 comprimidos de aciclovir 400mg (medicação conhecida). A forma de tomar será 1 comprimido 2 vezes ao dia. O grupo BCA receberá 180 comprimidos de 3mg de melatonina (novo tratamento) e irá tomá-lo 1 vez ao dia. O grupo CAB receberá 180 comprimidos de aciclovir 400mg (medicação conhecida) para serem tomados 1 comprimido 2 vezes ao dia e 180 comprimidos de 3mg de melatonina (tratamento novo) que deverá ser utilizado 1 vez ao dia. Estes remédios serão fornecidos pelo para cada mulher no dia da consulta, não sendo necessário comprar nenhum. O tempo da medicação será de 180 dias. Tanto as participantes quanto os pesquisadores somente saberão qual medicação cada paciente utilizou ao final do estudo. A senhora fará 5 consultas médicas, a primeira e os retornos em 30, 90, 180 e 195 dias. Em todas consultas o médico examinará as participantes e as senhoras responderão perguntas simples. Durante o exame físico, o médico verificará se tem alguma bolinha, manchinha vermelha ou ferida na genitália que pode ser causada pelo herpes genital,

Na primeira e última consulta a senhora responderá questionário sobre qualidade de vida e fará um exame de sangue. A quantidade de sangue colhida será igual a uma colher de sobremesa feita por uma picada na veia do braço, raramente pode ocorrer dor no local da picada e o lugar ficar um pouco roxo ou vermelho, porém, em média com 10 / 15 dias já volta ao normal,

Sua identidade como participante desta pesquisa é confidencial em qualquer publicação de resultados. A pesquisa será explicada para a senhora em qualquer dúvida que tiver. É garantida a liberdade da retirada do consentimento ou interrupção da participação a qualquer momento. Sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará em qualquer penalidade ou perda de benefícios como atendimento médico,

A participação no estudo não terá custos e nem haverá nenhuma compensação financeira adicional para as participantes. O benefício maior para a senhora nesta pesquisa é o tratamento e acompanhamento médico, sem custo algum, nas infecções pelo herpes genital; com a possibilidade de diminuir o tempo de doença e aumentar o espaço entre as crises. O risco maior será a falha no uso da melatonina e no caso será empregado o aciclovir, remédio já conhecido e testado há anos,

O principal investigador é o Dra Cristiane Lima Roa, que pode ser encontrado no Telefone 2661-6647 - 10º andar Instituto Central HCFMUSP – Ginecologia,

Se a senhora tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CapPesq – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-7585– e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Rubrica do participante de
pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP

Declaração do participante:

Acredito ter sido informada suficientemente a respeito da pesquisa “Os efeitos da melatonina no tratamento do herpes genital”, Tendo a pesquisadora Cristiane Lima Roa esclarecido minhas dúvidas, sei que minha decisão em participar ou não da pesquisa é inteiramente pessoal, a garantia de confidencialidade e de esclarecimentos são permanentes, Entendi também que minha participação é isenta de despesas e que tenho acesso ao tratamento hospitalar se necessário, Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes, sem penalidades ou prejuízo de qualquer benefício adquirido no meu atendimento neste serviço,

.....
Assinatura do participante/representante legal

Data ____/____/____

.....
Assinatura da testemunha,

Data ____/____/____

Para casos de participantes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual,

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo,

.....
Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____/____/____

Anexo C - Termo de assentimento (TA)**Termo de assentimento**

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP**

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. 1, NOME:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO: / /
ENDEREÇO Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE
CEP: TELEFONE: DDD (.....)
- 2, RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc,)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO: / /
ENDEREÇO Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE
CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1, TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Os efeitos da melatonina no tratamento do herpes genital,
PESQUISADORES: Cristiane Lima Roa, crm 91405 - Pós-graduanda strictu sensu da Faculdade de
Medicina da USP,
Dr José Maria Soares Júnior crmsp 82551 - Professor adjunto livre-docente da Disciplina de Endocrinologia
Ginecológica da USP,
UNIDADE DO HCFMUSP: Departamento de Ginecologia,

3, AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:RISCO MÍNIMO ☐RISCO MÉDIO ☐RISCO BAIXO ☒RISCO MAIOR ☐**4, DURAÇÃO DA PESQUISA: 6 meses,**

Rubrica do participante de
pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP****Descrição**

As informações sobre este estudo são fornecidas para sua participação voluntária nesta pesquisa com consentimento de seus pais ou responsável legal, O herpes genital é uma doença comum que atinge mulheres jovens e adultas, a maioria entre 15 e 49 anos, Causada pelo vírus chamado herpes simplex tipo 1 e 2, Ele pode causar queimação, coceira, dor, bolhas e feridas nos genitais, Isto causa desconforto e mal-estar além de poder passar de uma pessoa para outra na relação sexual e durante o parto da mãe para o bebê, Atualmente o tratamento desta doença é feita com a medicação aciclovir, O objetivo deste trabalho é o uso da melatonina, medicação utilizada para o sono, para tratar o herpes genital, A melatonina já foi estudada e não se sabe, ainda, seu efeito no tratamento do herpes genital, Ela será comparada ao tratamento conhecido com remédio aciclovir,

As 90 pacientes participantes da pesquisa serão divididas em 3 grupos de 30 pessoas, que receberão o nome de grupo ABC, BCA e CAB, O grupo ABC receberá 360 comprimidos de aciclovir 400mg (medicação conhecida), A forma de tomar será 1 comprimidos 2 vezes ao dia, O grupo BCA receberá 180 comprimidos de 3mg de melatonina (novo tratamento) e irá tomá-lo 1 vez ao dia, O grupo CAB receberá 180 comprimidos de aciclovir 400mg (medicação conhecida) para serem tomados 1 comprimido 2 vezes ao dia e 180 comprimidos de 3mg de melatonina (tratamento novo) que deverá ser utilizado 1 vez ao dia, Estes remédios serão fornecidos pelo para cada mulher no dia da consulta, não sendo necessário comprar nenhum, O tempo da medicação será de 180 dias, Tanto as participantes quanto os pesquisadores somente saberão qual medicação cada paciente utilizou ao final do estudo, Você fará cinco consultas médicas, a primeira e os retornos em 30, 90, 180 e 195 dias, Em todas consultas o médico examinará as participantes e vocês responderão perguntas simples, Durante o exame físico, o médico verificará se tem alguma bolinha, manchinha vermelha ou ferida na genitália que pode ser causada pelo herpes genital,

Na primeira e última consulta você responderá questionários sobre qualidade de vida, depressão e sonolência e fará um exame de sangue, A quantidade de sangue colhida será igual a uma colher de sobremesa feita por uma picada na veia do braço, Raramente pode ocorrer dor no local da picada e o lugar ficar um pouco roxo ou vermelho, porém, em média com 10 / 15 dias já volta ao normal,

Sua identidade como participante desta pesquisa é confidencial em qualquer publicação de resultados, A pesquisa será explicada em qualquer dúvida que você tiver, É garantida a liberdade da retirada do consentimento ou interrupção da participação a qualquer momento, Sua participação é voluntária e consentida por seus pais ou responsável legal, a recusa em participar não acarretará em qualquer penalidade ou perda de benefícios para você como atendimento médico

A participação no estudo não terá custos e nem haverá nenhuma compensação financeira adicional para as participantes, O benefício maior para você nesta pesquisa é o tratamento e acompanhamento médico, sem custo algum, nas infecções pelo herpes genital; com a possibilidade de diminuir o tempo de doença e aumentar o espaço entre as crises, O risco maior será a falha no uso da melatonina e no caso será empregado o aciclovir, remédio já conhecido e testado há anos,

O principal investigador é o Dra Cristiane Lima Roa, que pode ser encontrado no Telefone 2661-6647 - 10º andar Instituto Central HCFMUSP – Ginecologia,

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CapPesq – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-7585– e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Rubrica do participante de
pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP

Declaração do participante:

Acredito ter sido informada suficientemente a respeito da pesquisa “ Os efeitos de melatonina no tratamento do herpes genital “, Tendo a pesquisadora Cristiane Lima Roa esclarecido minhas dúvidas, sei que minha decisão em participar ou não da pesquisa é inteiramente pessoal, a garantia de confidencialidade e de esclarecimentos são permanentes, Entendi também que minha participação é isenta de despesas e que tenho acesso ao tratamento hospitalar se necessário, Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes, sem penalidades ou prejuízo de qualquer benefício adquirido no meu atendimento neste serviço,

.....
Assinatura do participante/representante legal

Data ____/____/____

.....
Assinatura da testemunha,

Data ____/____/____

Para casos de participantes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual,

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo,

.....
Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____/____/____

Anexo D - Versão Brasileira do Questionário de Qualidade de Vida -SF-36

1- Em geral você diria que sua saúde é:

Excelente	Muito Boa	Boa	Ruim	Muito ruim
1	2	3	4	5

2- Comparada há um ano atrás, como você se classificaria sua idade em geral, agora?

Muito Melhor	Um Pouco Melhor	Quase a Mesma	Um Pouco pior	Muito pior
1	2	3	4	5

3- Os seguintes itens são sobre atividades que você poderia fazer atualmente durante um dia comum, Devido à sua saúde, você teria dificuldade para fazer estas atividades? Neste caso, quando?

Atividades	Sim, muito dificulta	Sim, dificulta um pouco	Não, não dificulta de modo algum
a) Atividades Rigorosas, que exigem muito esforço, tais como correr, levantar objetos pesados, participar em esportes árduos,	1	2	3
b) Atividades moderadas, tais como mover uma mesa, passar aspirador de pó, jogar bola, varrer a casa,	1	2	3
c) Levantar ou carregar mantimentos	1	2	3
d) Subir vários lances de escada	1	2	3
e) Subir um lance de escada	1	2	3
f) Curvar-se, ajoelhar-se ou dobrar-se	1	2	3
g) Andar mais de 1 quilômetro	1	2	3
h) Andar vários quarteirões	1	2	3
i) Andar um quarteirão	1	2	3
j) Tomar banho ou vestir-se	1	2	3

4- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas com seu trabalho ou com alguma atividade regular, como consequência de sua saúde física?

	Sim	Não
a) Você diminui a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2
c) Esteve limitado no seu tipo de trabalho ou a outras atividades,	1	2

d) Teve dificuldade de fazer seu trabalho ou outras atividades (p, ex, necessitou de um esforço extra),	1	2
---	---	---

5- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas com seu trabalho ou outra atividade regular diária, como consequência de algum problema emocional (como se sentir deprimido ou ansioso)?

	Sim	Não
a) Você diminui a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2
c) Não realizou ou fez qualquer das atividades com tanto cuidado como geralmente faz,	1	2

6- Durante as últimas 4 semanas, de que maneira sua saúde física ou problemas emocionais interferiram nas suas atividades sociais normais, em relação à família, amigos ou em grupo?

De forma nenhuma	Ligeiramente	Moderadamente	Bastante	Extremamente
1	2	3	4	5

7- Quanta dor no corpo você teve durante as últimas 4 semanas?

Nenhuma	Muito leve	Leve	Moderada	Grave	Muito grave
1	2	3	4	5	6

8- Durante as últimas 4 semanas, quanto a dor interferiu com seu trabalho normal (incluindo o trabalho dentro de casa)?

De maneira alguma	Um pouco	Moderadamente	Bastante	Extremamente
1	2	3	4	5

9- Estas questões são sobre como você se sente e como tudo tem acontecido com você durante as últimas 4 semanas, Para cada questão, por favor dê uma resposta que mais se aproxime de maneira como você se sente, em relação às últimas 4 semanas,

	Todo Tempo	A maior parte do tempo	Uma boa parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nunca
--	------------	------------------------	------------------------	-----------------------	----------------------------	-------

a) Quanto tempo você tem se sentindo cheio de vigor, de vontade, de força?	1	2	3	4	5	6
b) Quanto tempo você tem se sentido uma pessoa muito nervosa?	1	2	3	4	5	6
c) Quanto tempo você tem se sentido tão deprimido que nada pode anima-lo?	1	2	3	4	5	6
d) Quanto tempo você tem se sentido calmo ou tranqüilo?	1	2	3	4	5	6
e) Quanto tempo você tem se sentido com muita energia?	1	2	3	4	5	6
f) Quanto tempo você tem se sentido desanimado ou abatido?	1	2	3	4	5	6
g) Quanto tempo você tem se sentido esgotado?	1	2	3	4	5	6
h) Quanto tempo você tem se sentido uma pessoa feliz?	1	2	3	4	5	6
i) Quanto tempo você tem se sentido cansado?	1	2	3	4	5	6

10- Durante as últimas 4 semanas, quanto de seu tempo a sua saúde física ou problemas emocionais interferiram com as suas atividades sociais (como visitar amigos, parentes, etc)?

Todo Tempo	A maior parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nenhuma parte do tempo
1	2	3	4	5

11- O quanto verdadeiro ou falso é cada uma das afirmações para você?

	Definitivamente verdadeiro	A maioria das vezes verdadeiro	Não sei	A maioria das vezes falso	Definitivamente falso
a) Eu costumo obedecer um pouco mais facilmente que as outras pessoas	1	2	3	4	5
b) Eu sou tão saudável quanto qualquer pessoa que eu conheço	1	2	3	4	5
c) Eu acho que a minha saúde vai piorar	1	2	3	4	5

d) Minha saúde é excelente	1	2	3	4	5
----------------------------	---	---	---	---	---

CÁLCULO DOS ESCORES DO QUESTIONÁRIO DE QUALIDADE DE VIDA

Fase 1: Ponderação dos dados

Questão	Pontuação	
01	Se a resposta for	Pontuação
	1	5,0
	2	4,4
	3	3,4
	4	2,0
	5	1,0
02	Manter o mesmo valor	
03	Soma de todos os valores	
04	Soma de todos os valores	
05	Soma de todos os valores	
06	Se a resposta for	Pontuação
	1	5
	2	4
	3	3
	4	2
	5	1
07	Se a resposta for	Pontuação
	1	6,0
	2	5,4
	3	4,2
	4	3,1
	5	2,0
	6	1,0
08	<p>A resposta da questão 8 depende da nota da questão 7</p> <p>Se 7 = 1 e se 8 = 1, o valor da questão é (6)</p> <p>Se 7 = 2 à 6 e se 8 = 1, o valor da questão é (5)</p> <p>Se 7 = 2 à 6 e se 8 = 2, o valor da questão é (4)</p> <p>Se 7 = 2 à 6 e se 8 = 3, o valor da questão é (3)</p> <p>Se 7 = 2 à 6 e se 8 = 4, o valor da questão é (2)</p> <p>Se 7 = 2 à 6 e se 8 = 3, o valor da questão é (1)</p> <p>Se a questão 7 não for respondida, o escore da questão 8 passa a ser o seguinte:</p> <p>Se a resposta for (1), a pontuação será (6)</p> <p>Se a resposta for (2), a pontuação será (4,75)</p> <p>Se a resposta for (3), a pontuação será (3,5)</p> <p>Se a resposta for (4), a pontuação será (2,25)</p> <p>Se a resposta for (5), a pontuação será (1,0)</p>	

09	Nesta questão, a pontuação para os itens a, d, e, h, deverá seguir a seguinte orientação: Se a resposta for 1, o valor será (6) Se a resposta for 2, o valor será (5) Se a resposta for 3, o valor será (4) Se a resposta for 4, o valor será (3) Se a resposta for 5, o valor será (2) Se a resposta for 6, o valor será (1) Para os demais itens (b, c, f, g, i), o valor será mantido o mesmo
10	Considerar o mesmo valor,
11	Nesta questão os itens deverão ser somados, porém os itens b e d deverão seguir a seguinte pontuação: Se a resposta for 1, o valor será (5) Se a resposta for 2, o valor será (4) Se a resposta for 3, o valor será (3) Se a resposta for 4, o valor será (2) Se a resposta for 5, o valor será (1)

Fase 2: Cálculo do Raw Scale

Nesta fase você irá transformar o valor das questões anteriores em notas de 8 domínios que variam de 0 (zero) a 100 (cem), onde 0 = pior e 100 = melhor para cada domínio, É chamado de raw scale porque o valor final não apresenta nenhuma unidade de medida,

Domínio:

- Capacidade funcional
- Limitação por aspectos físicos
- Dor
- Estado geral de saúde
- Vitalidade
- Aspectos sociais
- Aspectos emocionais
- Saúde mental

Para isso você deverá aplicar a seguinte fórmula para o cálculo de cada domínio:

Domínio:

Valor obtido nas questões correspondentes – Limite inferior x 100

Variação (Score Range)

Na fórmula, os valores de limite inferior e variação (Score Range) são fixos e estão estipulados na tabela abaixo,

Domínio	Pontuação das questões correspondidas	Limite inferior	Variação
Capacidade funcional	03	10	20
Limitação por aspectos físicos	04	4	4
Dor	07 + 08	2	10
Estado geral de saúde	01 + 11	5	20
Vitalidade	09 (somente os itens a + e + g + i)	4	20
Aspectos sociais	06 + 10	2	8
Limitação por aspectos emocionais	05	3	3
Saúde mental	09 (somente os itens b + c + d + f + h)	5	25

Exemplos de cálculos:

- Capacidade funcional: (ver tabela)

Domínio: Valor obtido nas questões correspondentes – limite inferior x 100

Variação (Score Range)

Capacidade funcional: $\frac{21 - 10}{20} \times 100 = 55$

20

O valor para o domínio capacidade funcional é 55, em uma escala que varia de 0 a 100, onde o zero é o pior estado e cem é o melhor,

- Dor (ver tabela)

- Verificar a pontuação obtida nas questões (ver tabela), por exemplo: 5,4 e 4, portanto somando-se as duas, teremos: 9,4

- Aplicar fórmula:

Domínio: Valor obtido nas questões correspondentes – limite inferior x 100

Variação (Score Range)

Dor: $\frac{9,4 - 2}{10} \times 100 = 74$

10

O valor obtido para o domínio dor é 74, numa escala que varia de 0 a 100, onde zero é o pior estado e cem é o melhor,

Assim, você deverá fazer o cálculo para os outros domínios, obtendo oito notas no final, que serão mantidas separadamente, não se podendo soma-las e fazer uma média,

Obs,: A questão número 02 não faz parte do cálculo de nenhum domínio, sendo utilizada somente para se avaliar o quanto o indivíduo está melhor ou pior comparado a um ano atrás,

Se algum item não for respondido, você poderá considerar a questão se esta tiver sido respondida em 50% dos seus itens,

Anexo E - Questionário de depressão de Beck**A TRISTEZA**

- 0 Não me sinto triste,
- 1 Sinto-me melancólico(a) ou triste,
- 2a Estou triste e melancólico(a) o tempo todo e não consigo sair disso,
- 2b estou tão triste e infeliz que isso é extremamente doloroso,
- 3 Estou tão triste e infeliz que não consigo suportar,

B PESSIMISMO

- 0 Não estou particularmente triste ou desencorajado(a) em relação ao futuro,
- 1 Sinto-me desencorajado(a) em relação ao futuro,
- 2a Sinto que não tenho nada para alcançar,
- 2b sinto que nunca superarei meus problemas,
- 3 Sinto que o futuro é sem esperança e que as coisas não podem melhorar,

C SENSO DE FRACASSO

- 0 Não me sinto um fracassado(a),
- 1 Sinto que tenho fracassado(a) mais que uma pessoa comum,
- 2a Sinto que tenho realizado muito pouca coisa que valha,
- 2b Quando olho para trás, na minha vida, tudo o que posso ver é um monte de fracassos,
- 3 Sinto que sou um completo fracasso como pessoa (pai, marido, mulher,,,),

D INSATISFAÇÃO

- 0 Não estou particularmente insatisfeito(a),
- 1a Sinto-me entediado(a) a maior parte do tempo,
- 1b não tenho gosto pelas coisas como costumava ter,
- 2 Não consigo ter satisfação por nada atualmente,
- 3 Estou insatisfeito(a) com tudo,

E CULPA

- 0 Não me sinto particularmente culpado(a),
- 1 Sinto-me mal ou indigno(a) uma boa parte do tempo,
- 2a Sinto-me bastante culpado (a),
- 2b sinto-me mal ou indigno (a), praticamente o tempo todo, agora,
- 3 Sinto-me como se estivesse bem ruim e sem valor,

F EXPECTATIVA DE PUNIÇÃO

- 0 Não sinto que esteja sendo punido(a),
- 1 Tenho um pressentimento de que algum coisa ruim possa acontecer comigo,
- 2 Sinto que estou sendo punido(a) ou que irei ser punido,
- 3a Sinto que mereço ser punido(a),
- 3b quero ser punido(a),

G AUTODESGOSTO

- 0 Não me sinto desapontado(a) comigo mesmo,
- 1a Estou desapontado(a) comigo mesmo,
- 1b não gosto de mim,
- 2 Estou aborrecido(a) comigo mesmo,
- 3 Eu me odeio,

H AUTO-ACUSAÇÕES

- 0 Não sinto que eu seja algo pior do que qualquer outra pessoa,
- 1 Critico-me por minhas fraquezas ou erros,
- 2 Acuso a mim mesmo(a) por minhas falhas,
- 3 Acuso a mim mesmo(a) por tudo de ruim que acontece,

I IDÉIAS SUICÍDAS

- 0 Não tenho quaisquer pensamentos sobre prejudicar a mim mesmo(a),
- 1 Tenho pensamentos sobre prejudicar a mim mesmo(a), mas eu não os colocaria em prática,
- 2a Sinto que estaria em melhor situação morto(a),
- 2b sinto que minha família estaria em melhor situação se eu estivesse morto(a),
- 3 Eu me mataria se pudesse,

J CHORO

- 0 Não choro mais do que o comum,
- 1 Choro mais do que costumava,
- 2 Choro o tempo todo, agora; eu não consigo parar com isso,
- 3 Eu costumava ser capaz de chorar, mas agora não consigo chorar de maneira alguma, muito embora eu queira,

K IRRITABILIDADE

- 0 Eu não estou mais irritado(a) agora do que costumo estar,
- 1 Fico aborrecido(a) ou irritado(a) mais facilmente do que costumava ficar,
- 2 Sinto-me irritado(a) o tempo todo,
- 3 Eu não fico irritado(a) de maneira alguma com as coisas que costumavam irritar-me,

L INTERAÇÃO SOCIAL

- 0 Eu não perdi o interesse por outras pessoas,
- 1 Estou menos interessado(a) nas pessoas, agora, do que costumava estar,
- 2 Perdi a maior parte do meu interesse por outras pessoas e tenho pouco sentimento por elas,
- 3 Perdi todo o meu interesse por outras pessoas e não me importo com elas de maneira alguma,

M INDECISÃO

- 0 Tomo decisões tão bem quanto sempre tomei,
- 1 Tento adiar as tomadas de decisão,
- 2 Tenho grande dificuldade em tomar decisões,
- 3 Não consigo tomar quaisquer decisões atualmente,

N MUDANÇA DA IMAGEM CORPORAL

- 0 Eu não sinto que pareça algo pior do que costumava ser,
- 1 Eu estou preocupado(a) que esteja parecendo velho(a) ou sem atrativos,
- 2 Sinto que há mudanças permanentes em minha aparência e elas me fazem parecer sem atrativos,
- 3 Sinto que estou com uma aparência feia ou repulsiva,

O RETARDO PARA O TRABALHO

- 0 Posso trabalhar tanto quanto antes,
- 1a É necessário um esforço extra para conseguir começar a fazer alguma coisa,
- 1b não trabalho tão bem quanto costumava,
- 2 Tenho de me esforçar demasiadamente para fazer qualquer coisa,
- 3 Não consigo fazer nenhum trabalho de maneira alguma,

P INSÔNIA

- 0 Posso dormir tão satisfatoriamente quanto o de costume,
- 1 Acordo mais cansado(a) de manhã do que costumava,
- 2 Acordo uma ou duas horas mais cedo do que é comum e encontro dificuldade para voltar a dormir,
- 3 Acordo cedo todo dia e não posso conciliar mais do que cinco horas de sono,

Q SUSCETIBILIDADE À FADIGA

- 0 Não fico mais cansado(a) do que o comum,
- 1 Fico cansado(a) mais facilmente do que costumava,
- 2 Fico cansado(a) ao fazer qualquer coisa,
- 3 Fico cansado(a) demais para fazer alguma coisa,

R ANOREXIA (perda de apetite)

- 0 Meu apetite não está pior do que o comum,
- 1 Meu apetite não está tão bom quanto costumava estar,
- 2 Meu apetite está bem pior agora,
- 3 Não tenho apetite de maneira alguma,

S PERDA DE PESO

- 0 Não tenho perdido muito peso, se é que perdi algum, ultimamente,
- 1 Perdi mais do que 2 quilos,
- 2 Perdi mais do que 4 quilos e meio,
- 3 Perdi mais do que 7 quilos,

T PREOCUPAÇÃO SOMÁTICA (preocupação com o organismo; em adoecer)

- 0 Não me preocupo com minha saúde mais que o comum,
- 1 Estou preocupado(a) com dores ou sofrimentos, desarranjo estomacal ou prisão de ventre,
- 2 Estou tão preocupado(a) em como eu me sinto ou com o que sinto, que é difícil pensar em muitas outras coisas,
- 3 Estou completamente absorto(a) com relação ao que sinto,

U PERDA DO INTERESSE SEXUAL

- 0 Não tenho notado mudança alguma recente no meu interesse por sexo,
- 1 Estou menos interessado por sexo que costumava estar,
- 2 Estou muito menos interessado por sexo, agora,
- 3 Perdi completamente o interesse por sexo,

PONTUAÇÃO:

Some a quantidade de pontos referente à sua resposta (exemplo, 2a = 2 pontos)

- Abaixo de 10 = Sem depressão ou depressão leve;
- Entre 10 e 18 = Depressão leve a moderada;
- Entre 19 e 29 = Depressão moderada a grave;
- Entre 30 e 63 = Depressão grave,

Anexo F - Escala de Sonolência de Epworth**Classificar as situações associadas à sonolência:****Sentar e ler**

- ☐ Nenhuma chance de cochilar (0 pontos)
- ☐ Leve chance de cochilar (1 ponto)
- ☐ Chance moderada de cochilar (2 pontos)
- ☐ Alta chance de cochilar (3 pontos)

Assistir à TV

- ☐ Nenhuma chance de cochilar (0 pontos)
- ☐ Leve chance de cochilar (1 ponto)
- ☐ Chance moderada de cochilar (2 pontos)
- ☐ Alta chance de cochilar (3 pontos)

Ficar sentado, sem fazer nada, em um local público

- ☐ Nenhuma chance de cochilar (0 pontos)
- ☐ Leve chance de cochilar (1 ponto)
- ☐ Chance moderada de cochilar (2 pontos)
- ☐ Alta chance de cochilar (3 pontos)

Ficar sentado, por uma hora, como passageiro em um carro

- ☐ Nenhuma chance de cochilar (0 pontos)
- ☐ Leve chance de cochilar (1 ponto)
- ☐ Chance moderada de cochilar (2 pontos)
- ☐ Alta chance de cochilar (3 pontos)

Deitar à tarde para descansar

- ☐ Nenhuma chance de cochilar (0 pontos)
- ☐ Leve chance de cochilar (1 ponto)
- ☐ Chance moderada de cochilar (2 pontos)
- ☐ Alta chance de cochilar (3 pontos)

Sentar e conversar com outra pessoa

- ☐ Nenhuma chance de cochilar (0 pontos)

- ☐ Leve chance de cochilar (1 ponto)
- ☐ Chance moderada de cochilar (2 pontos)
- ☐ Alta chance de cochilar (3 pontos)

Sentar, em silêncio, depois do almoço (sem ingestão de álcool)

- ☐ Nenhuma chance de cochilar (0 pontos)
- ☐ Leve chance de cochilar (1 ponto)
- ☐ Chance moderada de cochilar (2 pontos)
- ☐ Alta chance de cochilar (3 pontos)

Sentado em um carro, parado por alguns minutos por causa de trânsito

- ☐ Nenhuma chance de cochilar (0 pontos)
- ☐ Leve chance de cochilar (1 ponto)
- ☐ Chance moderada de cochilar (2 pontos)
- ☐ Alta chance de cochilar (3 pontos)

Contagem de pontos, critérios totais:

Redefinir forma

Interpretação de ESSE

1 - 6 pontos:	Sono normal
7 - 8 pontos:	Média de sonolência
9 - 24 pontos:	Sonolência anormal (possivelmente patológica)

Anexo G - Escala de dor LANNS

(Adaptada ao Português do Brasil por Schestatsky et al., 2011)

Nome:

Esta escala de dor ajuda a determinar como os nervos que carregam a informação de dor estão funcionando, É importante obter este tipo de informação, pois ela pode ajudá-lo na escolha de um tratamento específico para o seu tipo de dor,

A, QUESTIONÁRIO DE DOR -

Pense na dor que você vem sentindo na última semana, Por favor, diga se qualquer uma das características abaixo se aplica à sua dor,

Responda apenas SIM ou NÃO,

1) A sua dor se parece com uma sensação estranha e desagradável na pele? Palavras como “agulhadas”, “choques elétricos” e “formigamento” são as que melhor descrevem estas sensações,

a) NÃO – Minha dor não se parece com isso.....[0]

b) SIM – Eu tenho este tipo de sensação com frequência.....[5]

2) A sua dor faz com que a cor da pele dolorida mude de cor? Palavras como “manchada” ou “avermelhada ou rosada” descrevem a aparência da sua pele,

a) NÃO – Minha dor não afeta a cor da minha pele.....[0]

b) SIM – Eu percebi que a dor faz com que minha pele mude de cor,[5]

3) A sua dor faz com a pele afetada fique sensível ao toque? [A ocorrência de] Sensações desagradáveis ou dolorosas ao toque leve ou mesmo ao toque da roupa ao vestir-se descrevem esta sensibilidade anormal,

a) NÃO – Minha dor não faz com que minha pele fique mais sensível.....,[0]

b) SIM – Minha pele é mais sensível ao toque nesta área.....[3]

4) A sua dor inicia de repente ou em crises, sem nenhuma razão aparente, quando você está parado, sem fazer nenhum movimento? Palavras como “choques elétricos”, “dor em pontada” ou “dor xplósiva” descrevem estas sensações,

a) NÃO – Minha dor não se comporta desta forma [0] b) SIM – Eu tenho estas sensações com muita frequência..... [2]

5) A sua dor faz com que a temperatura da sua pele na área dolorida mude? Palavras como “calor” e “queimação” descrevem estas sensações,

a) NÃO – Eu não tenho este tipo de sensação..... [0]

b) SIM – Eu tenho estas sensações com frequência..... [1]

B, EXAME DA SENSIBILIDADE (preenchido pelo médico)

A sensibilidade da pele pode ser examinada comparando-se a área dolorida com a área contralateral ou nas áreas adjacentes não doloridas avaliando a presença de alodinia e alteração do limiar de sensação ao estímulo da agulha (LSA),

6) ALODINIA

Examine a resposta ao toque leve com algodão sobre a área não dolorida e, a seguir, ao toque da área dolorida, Caso sensações normais forem percebidas no lado não dolorido e, ao contrário, se dor ou sensações desagradáveis (sensação tipo “picada” ou “latejante”) forem percebidas na área afetada, então a alodinia está presente,

a) NÃO – Sensação normal em ambas as áreas, [0] b) SIM – Alodinia somente na área dolorida..... [5]

7) ALTERAÇÃO DO LIMIAR POR ESTÍMULO DE AGULHA

a) Determine o limiar por estímulo de agulha pela comparação da resposta a uma agulha de espessura 23 (cor azul) conectada a uma seringa de 2 ml – sem a parte interna – suavemente colocada nas áreas doloridas da pele e depois nas não doloridas,

b) Caso uma sensação de agulhada normal for sentida na área da pele não dolorida, mas uma sensação diferente for sentida na área dolorida como, por exemplo, “nenhuma sensação” ou “somente sensação de toque” (LSA aumentado) ou “dor muito intensa” (LSA diminuído), isso significa que há um LSA Alterado,

c) Caso a sensação de agulhada não for percebida em nenhuma área, conecte a parte interna da seringa à agulha para aumentar o peso e repita a manobra,

a) NÃO – Sensação igual em ambas as áreas..... [0]

b) SIM – Limiar por estímulo de agulha alterado no lado dolorido..... [3]

ESCORE: Some os valores entre parênteses nos achados descritivos e de exame da sensibilidade para obter um score global,

ESCORE TOTAL (máximo 24)

Se o escore for menor que 12, mecanismos neuropáticos são improváveis de estarem contribuindo para a dor do paciente,

Se escore igual ou maior que 12, mecanismos neuropáticos provavelmente estão contribuindo para a dor do paciente,

Anexo H - Escala Visual Analógica – EVA

A Escala Visual Analógica – EVA consiste em auxiliar na aferição da intensidade da dor no paciente, é um instrumento importante para verificarmos a evolução do paciente durante o tratamento e mesmo a cada atendimento, de maneira mais fidedigna, Também é útil para podermos analisar se o tratamento está sendo efetivo, quais procedimentos têm surtido melhores resultados, assim como se há alguma deficiência no tratamento, de acordo com o grau de melhora ou piora da dor,

A EVA pode ser utilizada no início e no final de cada atendimento, registrando o resultado sempre na evolução, Para utilizar a EVA o atendente deve questionar o paciente quanto ao seu grau de dor sendo que **0** significa **ausência total de dor** e **10** o nível de **dor máxima** suportável pelo paciente,

Dicas sobre como interrogar o paciente:

- Você tem dor?
- Como você classifica sua dor? (Deixe ele falar livremente, faça observações na pasta sobre o que ele falar)

Questione-o:

- a) Se não tiver dor, a classificação é **zero**,
- b) Se a dor for moderada, seu nível de referência é **cinco**,
- c) Se for intensa, seu nível de referência é **dez**,

Anexo I - Certificado de Análise do Aciclovir

al -
APROVADO

CERTIFICADO DE ANÁLISES 101/18

INSUMO: MELATONINA
 NOME QUÍMICO: 5-methoxy-N-acetyltryptamine
 FÓRMULA MOLECULAR: C₁₃H₁₆N₂O₂
 LOTE FABRICANTE: ML171201
 ORIGEM: China CAS: 73-31-4
 FABRICAÇÃO: 04/12/2017

PESO MOLECULAR: 232,28 g/mol
 LOTE PRODUÇÃO: 0348/0418
 DCB: 11038
 VALIDADE: 03/12/2020

ANÁLISE	MÉTODO	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADOS	REFERÊNCIA
Descrição	Visual	Pó branco ou off-white	Conforme***	USP 36 ✓
Solubilidade	FB 5 <Solubilidade>	-	Praticamente insolúvel em água; solúvel em etanol; Ligeiramente solúvel em propilenoglicol; Praticamente insolúvel em óleo de girassol*	- ✓
Identificação	USP 36	Infravermelho Ultravioleta HPLC	Conforme** ✓ Conforme** ✓ Conforme**/✓	USP 36 USP 36 USP 36
Teor	USP 36	98,5 - 101,5 %	99,70 %** ✓	USP 36
Densidade	Densímetro	-	0,386±0,004 g/cm ³ **	-
Ponto de Fusão	USP 40 <741>	-	119,6 °C** ✓	-
Perda por dessecação	USP 36	≤ 1,0 %	0,20 %** ✓	USP 36
Cinzas sulfatadas	USP 36	≤ 0,1 %	0,03 %** ✓	USP 36
Cloreto e Sulfato	USP 36	≤ 0,02 %	< 0,02 %** ✓	USP 36
Metais pesados	USP 36	≤ 20 ppm	Conforme** ✓	USP 36
Impurezas individuais	USP 36	≤ 0,1 %	0,05 %** ✓	USP 36
Total de impurezas	USP 36	≤ 1,0 %	0,27 %** ✓	USP 36

*Resultado obtido no Laboratório de Controle de Qualidade Active Pharmaceutica.
 **Resultado transcrito conforme laudo original do fabricante

Conclusão
 (X) Aprovado
 () Reprovado

Armazenamento: Conservar em recipientes bem fechados ao abrigo de luz, calor e umidade.

Alexandre Eduardo
Farmacêutico Responsável
CRF SP 16034

 Luis G. Ferreira
 Diretor Técnico
 CRF SC 5378

 Alexandre Eduardo
 Farmacêutico Responsável
 CRF SC 13616

 Márcia R. Sperandio
 Farmacêutica Responsável
 CRF SC 55521

 Camilla F. Konell
 Farmacêutica Responsável
 CRF SC 11135

Palhoça, 12 de Abril de 2018

Avenida das Universidades, 453 – Pedra Branca – Palhoça – Santa Catarina – CEP
 88137-315 www.activepharmaceutica.com.br - Telefone: (48) 2132-2699
 CNPJ: 09.026.759/0001-18

Anexo J - Relatório de análise da Melatonina

[Signature]
Alina Balthazar
12/04/2018

Anexo K - Consort 2010

CONSORT 2010 lista de comprobación de la información que hay que incluir al comunicar un ensayo clínico aleatorizado *

Sección/tema	Ítem nº	Ítem de la lista de comprobación	Informado en página nº
Título y resumen			
	1a	Identificado como un ensayo aleatorizado en el título	
	1b	Resumen estructurado del diseño, métodos, resultados y conclusiones del ensayo (para una orientación específica, véase "CONSORT for abstracts")	
Introducción			
Antecedentes y objetivos	2a	Antecedentes científicos y justificación	
	2b	Objetivos específicos o hipótesis	
Métodos			
Diseño del ensayo	3a	Descripción del diseño del ensayo (p. ej., paralelo, factorial), incluida la razón de asignación	
	3b	Cambios importantes en los métodos después de iniciar el ensayo (p. ej., criterios de selección) y su justificación	
Participantes	4a	Criterios de selección de los participantes	
	4b	Procedencia (centros e instituciones) en que se registraron los datos	
Intervenciones	5	Las intervenciones para cada grupo con detalles suficientes para permitir la replicación, incluidos cómo y cuándo se administraron realmente	
Resultados	6a	Especificación a priori de las variables respuesta (o desenlace) principal(es) y secundarias, incluidos cómo y cuándo se evaluaron	
	6b	Cualquier cambio en las variables respuesta tras el inicio del ensayo, junto con los motivos de la(s) modificación(es)	
Tamaño muestral	7a	Cómo se determinó el tamaño muestral	
	7b	Si corresponde, explicar cualquier análisis intermedio y las reglas de interrupción	
Aleatorización:			
Generación de la secuencia	8a	Método utilizado para generar la secuencia de asignación aleatoria	
	8b	Tipo de aleatorización; detalles de cualquier restricción (como bloques y tamaño de los bloques)	
Mecanismo de ocultación de la asignación	9	Mecanismo utilizado para implementar la secuencia de asignación aleatoria (como contenedores numerados de modo secuencial), describiendo los pasos realizados para ocultar la secuencia hasta que se asignaron las intervenciones	
Implementación	10	Quién generó la secuencia de asignación aleatoria, quién seleccionó a los participantes y quién asignó los participantes a las intervenciones	
Enmascaramiento	11a	Si se realizó, a quién se mantuvo cegado después de asignar las intervenciones (p. ej., participantes, cuidadores, evaluadores del resultado) y de qué modo	
	11b	Si es relevante, descripción de la similitud de las intervenciones	
Métodos estadísticos	12a	Métodos estadísticos utilizados para comparar los grupos en cuanto a la variable respuesta principal y las secundarias	
	12b	Métodos de análisis adicionales, como análisis de subgrupos y análisis ajustados	
Resultados			
Flujo de participantes (se recomienda encarecidamente un diagrama de flujo)	13a	Para cada grupo, el número de participantes que se asignaron aleatoriamente, que recibieron el tratamiento propuesto y que se incluyeron en el análisis principal	
	13b	Para cada grupo, pérdidas y exclusiones después de la aleatorización, junto con los motivos	
Reclutamiento	14a	Fechas que definen los periodos de reclutamiento y de seguimiento	
	14b	Causa de la finalización o de la interrupción del ensayo	
Datos basales	15	Una tabla que muestre las características basales demográficas y clínicas para cada grupo	
Números analizados	16	Para cada grupo, número de participantes (denominador) incluidos en cada análisis y si el análisis se basó en los grupos inicialmente asignados	
Resultados y estimación	17a	Para cada respuesta o resultado final principal y secundario, los resultados para cada grupo, el tamaño del efecto estimado y su precisión (como intervalo de confianza del 95%)	
	17b	Para las respuestas dicotómicas, se recomienda la presentación de los tamaños del efecto tanto absoluto como relativo	
Análisis secundarios	18	Resultados de cualquier otro análisis realizado, incluido el análisis de subgrupos y los análisis ajustados, diferenciando entre los especificados a priori y los exploratorios	
Daños (Perjuicios)	19	Todos los daños (perjuicios) o efectos no intencionados en cada grupo (para una orientación específica, véase "CONSORT for harms")	
Discusión			
Limitaciones	20	Limitaciones del estudio, abordando las fuentes de posibles sesgos, las de imprecisión y, si procede, la multiplicidad de análisis	
Generalización	21	Posibilidad de generalización (validez externa, aplicabilidad) de los hallazgos del ensayo	
Interpretación	22	Interpretación consistente con los resultados, con balance de beneficios y daños, y considerando otras evidencias relevantes	
Otra información			
Registro	23	Número de registro y nombre del registro de ensayos	
Protocolo	24	Dónde puede accederse al protocolo completo del ensayo, si está disponible	
Financiación	25	Fuentes de financiación y otras ayudas (como suministro de medicamentos), papel de los financiadores	

* Recomendamos de modo encarecido leer esta lista de comprobación junto con "the CONSORT 2010 Explanation and Elaboration" para aclarar dudas importantes sobre todos los ítems. Si procede, también recomendamos leer las extensiones de CONSORT para ensayos aleatorizados por conglomerados, ensayos de no-efectividad y equivalencia, tratamientos no farmacológicos, intervenciones de medicamentos herbales y ensayos pragmáticos. Se están preparando otras extensiones para éstas y para referencias actualizadas relevantes, relacionadas con esta lista de verificación, véase www.consort-statement.org

8 REFERÊNCIAS

Acuña-Castroviejo D, Rahim I, Acuña-Fernández C. Melatonin, clock genes and mitochondria in sepsis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2017.

Aoki FY, Tying S, Diaz-Mitoma F, et al. Single-day, patient-initiated famciclovir therapy for recurrent genital herpes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis* 2006; 42:8–13.

Bartlett BL, Tying SK, Fife K, et al. Famciclovir treatment options for patients with frequent outbreaks of recurrent genital herpes: the RELIEF trial. *J Clin Virol* 2008; 43:190–5.

Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An Inventory for Measuring Depression. *Arch Gen Psychiatry*. 1961;4:561-71.

Beckman Coulters Sorting Tutorial. The EPICS ALTRA Floe Cytometer, Miami, Florida: Beckman Coulter INC, 2000.

Bertolazi AN, Fagundes SC, Hoff LS, Pedro VD, Menna Barreto SS, Johns MW. Portuguese-language version of the Epworth sleepiness scale: validation for use in Brazil. *J Bras Pneumol*. 2009 Sep;35(9):877-83. English, Portuguese.

Bodsworth NJ, Crooks RJ, Borelli S, et al. International Valaciclovir HSV Study Group. Valaciclovir versus aciclovir in patient initiated treatment of recurrent genital herpes: a randomised, double blind clinical trial. *Genitourin Med* 1997; 73:110–6.

Bonilla E, Valero N, Chacín-Bonilla L, Medina-Leendertz S. Melatonin and viral infections, *J Pineal Res* 2004; 36: 73-79,

Bonnar PE. Terapia com valaciclovir supressiva para reduzir a transmissão de herpes genital: boa política de saúde pública? *McGill J Med* 2009, 12:39-46.

Bradley H, Markowitz LE, Gibson T, et al. Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and 2—United States, 1999-2010. *J Infect Dis* 2014; 209:325–33.

Braga KMS, Pimenta VSC, Rodrigues FA, Santos TP, Araujo EG. Citometria de fluxo: histórico, princípios básicos e aplicações em pesquisa. *Enciclopedia _Biosfera_2016_027*.

Brentjens MH, Yeung-Yue KA, Lee PC, Tying SK. Recurrent genital herpes treatments and their impact on quality of life. *Pharmacoeconomics*. 2003;21(12):853-63.

Britto DBLA, Costa LFSB, Tenório BM, Maia CS, Gomes JAS, Guedes GHF, Oliveira MLF, Medeiros JP, Lapa VS, Tenório FCAM. Principais características da ação da melatonina no corpo humano: uma revisão literária. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, 47: e3121, 2020.

Buggert M, Nguyen S, Salgado-Montes de Oca G, Bengsch B, Darko S, Ransier A, Roberts ER, Del Alcazar D, Brody IB, Vella LA, Beura L, Wijeyesinghe S,

- Herati RS, Del Rio Estrada PM, Ablanado-Terrazas Y, Kuri-Cervantes L, Sada Japp A, Manne S, Vartanian S, Huffman A, Sandberg JK, Gostick E, Nadolski G, Silvestri G, Canaday DH, Price DA, Petrovas C, Su LF, Vahedi G, Dori Y, Frank I, Itkin MG, Wherry EJ, Deeks SG, Naji A, Reyes-Terán G, Masopust D, Douek DC, Betts MR. Identification and characterization of HIV-specific resident memory CD8⁺ T cells in human lymphoid tissue. *Sci Immunol*. 2018 Jun 1;3(24):eaar4526.
- Cardinali DP, Esquifino AI, Srinivasan V, Pandi-Perumal SR. Melatonin and the immune system in aging. *Neuroimmunomodulation*. 2008;15(4-6):272-8.
- Carrascal L, Nunez-Abades P, Ayala A, Cano M. Papel da melatonina no processo inflamatório e seu potencial terapêutico. *Curr Pharm Des* (2018) 24(14):1563-88.
- Cernik C, Gallina K, Brodell RT. The treatment of herpes simplex infections: an evidence-based review. *Arch Intern Med*, 2008; 168(11):1137-44.
- Chatis PA, Crumpacker CS. Mini review: Resistance of Herpes Viruses to antiviral drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36:1589.
- Chosidow O, Drouault Y, Leconte-Veyriac F, et al. Famciclovir vs. aciclovir in immunocompetent patients with recurrent genital herpes infections: a parallel-groups, randomized, double-blind clinical trial. *Br J Dermatol* 2001; 144:818–24.
- Christophers J, Clayton J, Craske J, Ward R, Collins P, Trowbridge M, Darby G. Survey of resistance of herpes simplex virus to acyclovir in northwest England. *Agentes antimicrob Chemother*. 1998, 42:868-872.
- Ciconelli RM, Ferrá, MB, Santos W, Meinão I, Quaresma MR. Tradução para a língua portuguesa e validação do questionário genérico de avaliação de qualidade de vida SF-36 (Brasil SF-36). *Rev Bras Reumatol*.1999;39(3):143-50.
- Cipolla-Neto J, Amaral FG. Melatonina como hormônio: Novos Insights Fisiológicos e Clínicos. *Endocr Ver* (2018) 39(6):990-1028.
- Cole S. Herpes Simplex Virus: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Nurs Clin North Am*. 2020 Sep;55(3):337-345.
- Corey L, Spear PG, Infections with Herpes Simplex viroses, *N Engl J Med*, 1986 Mar 13;314(11):686-91.
- Corey L, Wald A, Patel R, et al. Once-daily valacyclovir to reduce the risk of transmission of genital herpes. *N Engl J Med* 2004, 350:11–20.
- De Clercq E. Antivirais: passado, presente e futuro. *Bioquímica Pharmacol*. 2013 Mar 15; 85(6):727-44.
- Delaney S, Gardella C, Saracino M, Margaret A, Wald A. Seroprevalence of herpes simplex virus type 1 and 2 among pregnantwomen, 1989-2010. *JAMA*, 2014; 312(7):746-8.

Diaz-Mitoma F, Sibbald RG, Shafran SD, et al. Collaborative Famciclovir Genital Herpes Research Group. Oral famciclovir for the suppression of recurrent genital herpes: a randomized controlled trial. *JAMA* 1998; 280:887–92

Dongli P, Donald MC. Quantification and Analysis of Thymidine Kinase Expression from Acyclovir- Resistant G-String Insertion and Deletion Mutants in Herpes Simplex Virus-Infected Cells. *J Virol*, Apr 2012, 86(8): 4518-4526.

Fang Y, Ramasamu RP. Current and Prospective Methods for Plant Disease Detection. *Biosensors*, v. 4, 537-561, 2015. Disponível em: <http://www.mdpi.com/2079-3674/5/3/537>.

Ferreira CS, Maganhin CC, Simões RS. Melatonina: Modulador de Morte Celular. *Rev Assoc Med Bras* 2010; 56(6): 715-8.

Fife KH, Barbarash RA, Rudolph T, et al. The Valaciclovir International Herpes Simplex Virus Study Group. Valaciclovir versus acyclovir in the treatment of first-episode genital herpes infection: results of an international, multicenter, double-blind, randomized clinical trial. *Sex Transm Dis* 1997; 24:481–6.

Fife KH, Crumacker CS, Mertz GJ, et al. Acyclovir Study Group. Recurrence and resistance patterns of herpes simplex virus following cessation of ≥6 years of chronic suppression with acyclovir. *J Infect Dis* 1994; 169:1338–41.

Fyfe JA, Keller PM, Furman PA, Miller RL, Elion GB. Thymidine kinase from herpes simplex virus phosphorylates the new antiviral compound, 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine. *J Biol Chem*. 1978 Dec 25;253(24):8721-7.

Geller N, Mendel SN, Ribeiro MG. Herpes Simples: Atualização Clínica, Epidemiológica e Terapêutica. *DST – J bras Doenças Sex Transm* 2012; 24(4); 260-266.

Gift AG. Visual analogue scales: measurement of subjective phenomena. *Nurs Res* 1989; 38:286-8.

Gilbert LK, Wyand F. Genital herpes education and counseling: testing a one-page 'FAQ' intervention. *Herpes* 2009; 15:51–6.

Glebezdina NS, Olina AA, Nekrasova IV, Kuklina EM. Role of Endogenous Melatonin in the Regulation of Th17/Treg Balance during Pregnancy. *Bull Exp Biol Med*. 2018 Mar;164(4):462-465.

Goldberg LH, Kaufman R, Kurtz TO, Conant MA, Eron LJ, Batenhorst RL, Boone GS. Long-term suppression of recurrent genital herpes with acyclovir. A 5-year benchmark. Acyclovir Study Group. *Arch Dermatol*. 1993 May;129(5):582-7. PMID: 8481018.

Goldberg LH, Kaufman R, Kurtz TO, et al. Acyclovir Study Group. Long-term suppression of recurrent genital herpes with acyclovir: a 5-year benchmark. *Arch Dermatol* 1993; 129:582–7.

Gómez-Moreno G, Guardia J, Ferrera MJ, Cutando A, Reiter RJ. Melatonin in Diseases of Oral Cavity. *Oral Diseases* 2010; 16: 242-247.

Gorenstein C, Andrade L. Validation of a Portuguese version of the Beck Depression Inventory and the State-Trait Anxiety Inventory in Brazilian subjects. *Braz J Med Biol Res* 1996;29(4):453-7.

Groves MJ. Genital Herpes: A Review. *Am Fam Physician*. 2016 Jun 1;93(11):928-34. PMID: 27281837.

Gulzar N, Copeland KF. CD8+ T-cells: function and response to HIV infection. *Curr HIV Res*. 2004 Jan;2(1):23-37. doi:

Gupta R, Warren T, Wald A. Genital herpes. *Lancet*, 2007;370(9605): 2127-37.

Hu QH, Xu JJ, Chu ZX, Zhang J, Yu YQ, Yu H, Ding HB, Jiang YJ, Geng WQ, Wang N, Shang H. Prevalence and Determinants of Herpes Simplex Virus Type 2 (HSV-2)/Syphilis Co-Infection and HSV-2 Mono-Infection among Human Immunodeficiency Virus Positive Men Who Have Sex with Men: a Cross-Sectional Study in Northeast China. *Jpn J Infect Dis*. 2017 May 24;70(3):284-289.

Huskisson EC. Measurement of pain. *Lancet* 1974; 2:1127-31.

Ito Y, Iida T, Yamamura Y, Teramura M, Nakagami Y, Kawai K, Nagamura Y, Teradaira R. Relationships between Salivary Melatonin Levels, Quality of Sleep, and Stress in Young Japanese Females. *Int J Tryptophan Res*. 2013 Oct 10;6(Suppl 1):75-85.

Jensen MP, Karoly P, Braver S. The measurement of clinical pain intensity: a comparison of six methods. *Pain* 1986; 27:117-26.

Jensen MP, Turner JA, Romano JM. What is the maximum number of levels needed in pain intensity measurement? *Pain* 1994; 58:387-92.

Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep*. 1991;14:540-5.

Junqueira LC, Carneiro J. Histologia básica I. [12. ed]. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

Kadena M, Kumagai Y, Vandenbon A, Matsushima H. Microarray and gene co-expression analysis reveals that melatonin attenuates immune responses and modulates actin rearrangement in macrophages, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 485 (2017) 414-420.

Kaufmann JK, Flechtner JB. Evolution of rational vaccine designs for genital herpes. *Current Opinion in Virology* 2016;17: 80-86.

Kim HA, Lee KH, Lee BH. Neuroprotective Effect of Melatonin against Kainic Acid-Induced Oxidative Injury in Hippocampal Slice Culture of Rats. *In J Mol Sci* 2014 Apr;15(4): 5940-5951.

Kimberlin DW, Rouse DJ. Clinical practice: genital herpes. *N Engl J Med*, 2004; 350(19): 1970-7.

Kłysik K, Pietraszek A, Karewicz A, Nowakowska M. Acyclovir in the Treatment of Herpes Viruses - A Review. *Curr Med Chem*. 2020;27(24):4118-4137

Koelle DM, Abbo H, Peck A, Ziegweid K, Corey L. Direct Recovery of Herpes Simples Virus (HSV) – Especific Tlymphoayte clones from recurrent genital HSV2 lesions. *Infect Dis* 1994; 169: 956-61.

Krawczyk A, Arndt MA, Grosse-Hovest L. Overcoming drug-resistant herpes simplex virus (HSV) infection by a humanized antibody. *Proc Nati Acad Sci USA* Apr 23, 2013; 110(17): 6760-6765.

Kreisel KM, Spicknall IH, Gargano JW, Lewis FM, Lewis RM, Markowitz LE, Roberts H, Satcher Johnson A, Song R, St Cyr SB, Weston EJ, Torrone EA, Weinstock HS. Sexually Transmitted Infections Among US Women and Men: Prevalence and Incidence Estimates, 2018. *Sex Transm Dis*. 2021 Jan 23

Krysinska-Traczyk E, Dutkiewicz J. Aspergillus candidus: a respiratory hazard associated with grain dust. *Ann Agric Environ Med*. 2000;7(2):101-9.

Lafferty WE, Downey L, Celum C, Wald A. Herpes simplex virus type 1 as a cause of genital herpes: impacto n sureillance and prevention. *J Infect Dis*, 2000;181(4):1454-7.

Lebrun-Vignes B, Bouzamondo A, Dupuy A, Guillaume JC, Lechat P. Chosidow O, A meta-analysis to assess the efficacy of oral antiviral treatment to prevent genital herpes outbreaks. *J AM Acad Dermatol*, 2007; 57(2):238-46.

Leone PA, Trottier S, Miller JM. Valacyclovir for episodic treatment of genital herpes: a shorter 3-day treatment course compared with 5-day treatment. *Clin Infect Dis* 2002; 34:958–62.

Li D, Yang X, Zhang Z, Wang Z, Qi X, Ruan Y, Zhou Y, Li C, Luo F, Lau JT. Incidence of Co-Infections of HIV, Herpes Simplex Virus Type 2 and Syphilis in a Large Cohort of Men Who Have Sex with Men in Beijing, China. *PLoS One*. 2016 Jan 28;11(1):e0147422.

Looker KJ, Garnett GP. An estimate of the global prevalence and incidence of herpes simplex virus type 2 infection. *Bull World Health Organ*, 2008;86(10):805-12.

Lu W, Mehraj V, Vyboh K, Cao W, Li T, Routy JP. CD4:CD8 ratio as a frontier marker for clinical outcome, immune dysfunction and viral reservoir size in virologically suppressed HIV-positive patients. *J Int AIDS Soc*. 2015; 18: 20052.

Lupi O, Pereira Jr A C. Herpes Simples. In: Lupi O, Silva A G, Pereira Jr A C, Herpes: Clínica, Diagnóstico e Tratamento. Rio de Janeiro: Medsi, 2000.

Maestroni GJ. The photoperiod transducer melatonin and the Immunehematopoietic system. *J Photochem Photobiol* 1998; 43 (31:186-92).

Maganhin CC, Carleone AAF, Haty JH. Efeitos da Melatonina no Sistema Genital Feminino: breve revisão. *Rev Assoc Med Bras* 2008; 54(3): 267-71.

Magdaleno-Tapia J, Hernández-Bel P, Valenzuela-Oñate C, Ortiz-Salvador JM, García-Legaz-Martínez M, Martínez-Domenech Á, Pérez-Pastor G, Esteve-Martínez A, Zaragoza-Ninet V, Sánchez-Carazo JL, Miquel VA, Pérez-Ferriols A. Genital Infection With Herpes Simplex Virus Type 1 and Type 2 in Valencia, Spain: A Retrospective Observational Study. *Actas Dermosifiliogr*. 2020 Jan 2;111(1):53-58. English, Spanish.

Mahmood D, Muhammad BY, Alghani M, Anwar J, Lebban N, Haider M. Avanço do papel da melatonina no tratamento de distúrbios neuropsiquiátricos. *Egito J Basic Appl Sci* (2016) 3(3):203-18.

Mahmood D. Efectos pleiotrópicos de Melatonina. *Drug Res (Stuttg)* (2019) 69(2:65-74.

Markus RP, Fernandes PA, Kinker GS. Immune-pineal axis-acute inflammatory responses coordinatemelatonin synthesis by pinealocytes and phagocytes. *British Journal of Pharmacology* (2018)175, 3239-3250.

Martínez-Campa C, González A, Mediavilla MD, Alonso-González C, Sánchez-Barceló EJ, Cos S. Melatonin enhances the inhibitory effect of aminoglutethimide on aromatase activity in M C F, 7 Human Breast câncer cells. *Breast Cancer Res Treat*, 2005; 94(31: 249-54).

Martins LM, França APD, Kimura M. Quality of life of people with chronic illness. *Rev.Latino-Am .Enfermagem* vol.4 no.3 Ribeirão Preto Dec.1996.

MC Cormack S, Walsh JC. Herpes Simples: In: Focaccia R, 3ª ed, Tratado de Infectologia. São Paulo: Atheneu, p, 549-67, 2005.

Mertz GJ, Loveless MO, Levin MJ, et al. Collaborative Famciclovir Genital Herpes Research Group. Oral famciclovir for suppression of recurrent genital herpes simplex virus infection in women: a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Arch Intern Med* 1997; 157:343–9

Noguchi K, Gel Y, Brunner E, Konietzschke F. nparLD: An R Software Package for the Nonparametric Analysis of Longitudinal Data in Factorial Experiments. *Journal of Statistical Software*. 2012; 50(12): 1-23.

Noguchi K, Latif M, Thangalevu K, Konietzschke F, Gel Y, Brunner E. Nonparametric Analysis of Longitudinal Data in Factorial Experiments. John Wiley & Sons, New York. 2002.

Nunes Oda S, Pereira Rde S. Regression of herpes viral infection symptoms using melatonin and SB-73: comparison with Acyclovir. *J Pineal Res*. 2008 May;44(4):373-8.

Parra-Sánchez M. Genital ulcers caused by herpes simplex virus. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019 Apr;37(4):260-264. English, Spanish.

Paul MA, Love RJ, Jetly R, Richardson JD, Lanius RA, Miller JC, MacDonald M, Rhind SG. Blunted Nocturnal Salivary Melatonin Secretion Profiles in Military-Related Posttraumatic Stress Disorder. *Front Psychiatry*. 2019 Dec 6;10:882.

Pedrosa AMC. Triptofano, melatonina e seus produtos de oxidação: ações sobre os linfócitos T. Tese de doutorado da Faculdade de Ciencias Farmaceuticas da Universidade de São Paulo, 2007.

Penello AM, Campos BC, Simão MS. Genital Herpes. DST – *J Bras Doenças Sex Transm* 2010, 22 (2): 64-72.

Pereira RS, Nunes OS. Regression of herpes viral infection symptoms using melatonin and SB-73 comparison with acyclovir. *J Pineal Res*, 2008; 44: 373-378.

Polis CB, Curtis KM, Hannaford PC, Phillipis SJ, Chipato T, Kiarie JN, et al. An Updated Systematic Review of Epidemiological Evidence on Hormonal Contraceptive Methods and HIV Acquisition in Women. *Aids*. 2016; 30 (17):2665-83.

Posadzki PP, Bajpai R, Kyaw BM, Roberts NJ, Brzezinski A, Christopoulos GI, et al. Melatonin and Health: uma revisão guarda-chuva dos resultados de saúde e mecanismos biológicos de ação. *BMC Med* (2018) 16.

Prince DD, McGrath PA, Rafii A, Buckingham B. The validation of visual analogue scales as ratio scale measures for chronic and experimental pain. *Pain*. 1983;17:45-59.

Rahimi SB, Mohebbi A, Vakilzadeh G. Enhancement of therapeutic DNA vaccine potency by melatonin through inhibiting VEGF expression and induction of antitumor immunity mediated by CD8+Tcells. *Archives of Virology*, 2017.

Reitano M, Tying S, Lang W, et al. International Valaciclovir HSV Study Group. Valaciclovir for the suppression of recurrent genital herpes simplex virus infection: a large-scale dose range-finding study. *J Infect Dis* 1998; 178:603–10

Reiter RJ, Tan DX, Sainz RM, Mayo JC, Lopez-Burillo S. Melatonin: reducing the toxicity and increasing the efficacy of drugs. *J Pharm Pharmacol* 2002; 54: 1299-1321.

Roizman B, Knipe DM, Whitley RJ. Herpes Simplex Viruses. Fields virology ed 5, Edited by DM Knipe, RM Howley, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, pp 2501-2576.

Romanowski B, Marina RB, Roberts JN, et al. Patients' preference of valacyclovir once-daily suppressive therapy versus twice-daily episodic therapy for recurrent genital herpes: a randomized study. *Sex Transm Dis* 2003; 30:226–31.

Romanowski B, Zdanowicz YM, Owens ST. Em busca do melhor gerenciamento de herpes genital e padrão de cuidado (INSIGHTS): percepções médicas e pacientes sobre herpes genital. *Sex Transm Infect* 2008; 84:51-6.

Rouse DJ, Stringer JS. An appraisal of screening for maternal type-specific herpes simplex virus antibodies to prevent neonatal herpes. *AM J Obstet Gynecol* 2000; 183(2): 400-6.

Sainz T, Serrano-Villar S, Díaz L, González Tomé MI, Gurbindo MD, de José MI, Mellado MJ, Ramos JT, Zamora J, Moreno S, Muñoz-Fernández MA. The CD4/CD8 ratio as a marker T-cell activation, senescence and activation/exhaustion in treated HIV-infected children and young adults. *AIDS*. 2013 Jun 1; 27(9):1513-6.

Satyanarayanan S, Su H, Lin YW, Su KP. Ritmo circadiano e melatonina no tratamento da depressão. *Curr Pharm Des* (2018) 24(22:2549-55.

Sauerbrei A, Bohn-Wippert K. Phenotypic and Genotypic Testing of HSV-1 and HSV-2 Resistance to Antivirals. *Methods Mol Biol*. 2020; 2060:241-261.

Schacjer T, Ryncarez AJ, Goddard J. Frequent Recovery of HIV1 from genital Herpes Simplex virus lesions in HIV1 infected men. *JAMA* 1998, 280: 61-6.

Schacker T, Zeh J, Hu HL, Hill E, Corey L. Frequency of symptomatic and asymptomatic herpes simplex virus type 2 reactivations among human immunodeficiency virus-infected men. *J Infect Dis*. 1998; 178:1616–1622.

Serrano-Villar S, Sainz T, Lee SA, Hunt PW, Sinclair E, Shacklett BL, Ferre AL, Hayes TL, Somsouk M, Hsue PY, Van Natta ML, Meinert CL, Lederman MM, Hatano H, Jain V, Huang Y, Hecht FM, Martin JN, McCune JM, Moreno S, Deeks SG. HIV-infected individuals with low CD4/CD8 ratio despite effective antiretroviral therapy exhibit altered T cell subsets, heightened CD8+ T cell activation, and increased risk of non-AIDS morbidity and mortality. *PLoS Pathog*. 2014 May; 10(5):e1004078.

Shahan TA, Sorenson WG, Paulauskis JD, Morey R, Lewis DM. Concentration- and time-dependent upregulation and release of the cytokines MIP-2, KC, TNF, and MIP-1alpha in rat alveolar macrophages by fungal spores implicated in airway inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1998 Mar;18(3):435-40.

Singh V, Rana RK, Singhal R. Analysis of repeated measurement data in the clinical trials. *J Ayurveda Integr Med*. 2013 Apr;4(2):77-81.

Soares Jr, JM, Simões RS, Simões MJ, Baracat EC. Aspectos moleculares de receptores de melatonina e sua ação na reprodução feminina. *Femina*;31(6):495-499, jul, 2003.

Steinhilber D, Brungs M, Werz O, Wiesenberg I, Danielsson C, Kahlen JP, Nayeri S, Schröder M, Carlberg C. The nuclear receptor for melatonin represses 5-lipoxygenase gene expression in human B lymphocytes. *J Biol Chem*. 1995 Mar 31; 270 (13):7037-40.

Stumpf BP, Rocha FL, Proietti ABFC. Grupo Interdisciplinar de pesquisa em HTLV 1?2 (GIPH). Viral infections and depression. *J.Bras.psiquiater*. vol.55, nº2. Rio de Janeiro, 2006.

Szczepanik M. Melatonin and its influence on immune system. *Journal of physiological Society*, 58 Suppl 6 (Suppl 6): 115-24, January, 2008.

Tamtaji OR, Mobini M, Reiter RJ, Azami A, Gholami MS, Asemi Z. Melatonin, a toll-like rector inhibitor: Current status and future perspectives. *J Cell Physiol*, 2018 Nov 1.

Tavares NUL, Bertoldi AD, Mengue SS, Arrais PSD, Luiza VL, Oliveira MA, Ramos LR, Farias MR, Pizzol TS. Fatores associados á baixa adesão ao tratamento farmacológico de doenças crônicas no brasil. *Rev.Saude Publica* 2016; 50(supl 2):10s.

Teva A, Fernandez JCC, Amendoeira MRR (eds.). Conceitos e Métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde. 1ª ed., Rio de Janeiro, Instituto osvaldo Cruz, p,1-124, 2009.

Tordjman S, Chokron S, Delorme R. Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits. *Current Neuropharmacology*, 2017;15, 34-443.

Unaid. Estatística global sobre ISTs - UNAIDS sobre prevenção. Disponível em: <https://unaid.org.br/2018> Acesso em 13/01/2019.

Valdés-Tovar M, Estrada-Reyes R, Solís-Chagoyán H, Argueta J, Dorantes-Barrón AM, Quero-Chávez D, Cruz-Garduño R, Cercós MG, Trueta C, Oikawa-Sala J, Dubocovich ML, Benítez-King G. Circadian modulation of neuroplasticity by melatonin: a target in the treatment of depression. *Br J Pharmacol*. 2018 Aug;175(16):3200-3208.

Valero N, MarinaEspina L, Bonilla E, Mosquera J. Melatonin decreases nitric oxide production and lipid peroxidation and increases interleukin-1 beta in the brain of mice infected by the Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *J Pineal Res* 2007; 42: 107-112.

Varella RB, Pires IL, Saraiva CA, Guimaraes ACC, Guimaraes MA. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo vírus herpes simples (HSV) em pacientes transplantados e não transplantados. *J Bras Patol Med Lab*, 2005;41(4):257-62.

Vieira LHL, Soares Junior JM, Nunes MG, Simões RS, Kaari C, Haidar MA, Baracat EC. Efeitos da isoflavona e estrogênios conjugados equinos sobre a qualidade de vida na pós menopausa. *Rev bras Ginecol. Obstet* 2007; 29 (5):248-52).

Wald A, Lin K. Risk of human immunodeficiency virus infection in herpes simplex virus type 2-seropositive persons: a meta-analysis. *J Infect Dis*, 2002;185(1):45-52.

Wald A, Selke S, Warren T, et al. Comparative efficacy of famciclovir and valacyclovir for suppression of recurrent genital herpes and viral shedding. *Sex Transm Dis* 2006; 33:529–33.

Ware JE Jr, Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Med Care*. 1992 Jun;30(6):473-83. PMID: 1593914.

Weishaupt JH, Bartels C, Pölking E. Reduced Oxidative Damage in ALS by high dose enteral melatonin treatment. *J Pineal Res*, 2000; 41: 313-23.

Whitley RJ, Roizman B. Herpes Simplex virus infection. *Lancet* 2001; 357(9267): 1513-8.

Workowski KA, Bolan GA. Centers for Disease Control and Prevention, Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep*, 2015;64(RR-03):1-137.

Wu ZJ, Ouyang MA, Tan QW. New aspergillone and aspergillone from the marine fungus *Aspergillus* sp. *Pest Manag Sci*. 2009 Jan; 65(1):60-5.

Yoo MY, Jang KS, KIM GH. Pharmacological advantages of melatonin in immunosenescence by improving activity of T lymphocytes. *The Journal of Biomedical Research*, 2016 30(4):314-321.

Zlotos DP, Jockers R, Cecon E, Rivara S, Witt-Enderby PA. MT1 and MT2 melatonin receptors: ligands, models, oligomers, and therapeutic potential. *J Med Chem*. 2014 Apr 24;57(8):3161-85.