UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

**Efeito da suplementação de cisteína ou glutamina sobre o
metabolismo dos aminoácidos sulfurados e glutatona de
pacientes infectados pelo HIV nas condições de jejum e pós-
sobrecarga de metionina**

Maria Dorotéia Borges dos Santos

Tese para obtenção do grau de
DOCTOR

Orientador:
Prof. Titular Roberto Carlos Burini

São Paulo
2007

18.916

DEDALUS - Acervo - CQ

30100013016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
Bibliotecária responsável: Selma Maria de Jesus

Santos, Maria Dorotéia Borges dos.

Efeito da suplementação de cisteína ou glutamina sobre o metabolismo dos aminoácidos sulfurados e glutatona de pacientes infectados pelo HIV nas condições de jejum e pós-sobrecarga de metionina / Maria Dorotéia Borges dos Santos. – São Paulo : [s.n.], 2007.

Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2007.

Orientador: Roberto Carlos Burini

Assunto CAPES: 40500004

1. Aminoácidos - Metabolismo 2. Infecções por HIV - Tratamento
3. Metabolismo

CDD 616.39

Palavras chave: Aminoácidos sulfurados; Glutatona; Pacientes HIV+;
Suplementação de glutamina; Suplementação de NAC

Maria Dorotéia Borges dos Santos

Efeito da suplementação de cisteína ou glutamina sobre o
metabolismo dos aminoácidos sulfurados e glutatona de pacientes
infectados pelo HIV nas condições de jejum e pós-sobrecarga de
metionina

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

Prof. Titular Roberto Carlos Burini
orientador/presidente

Prof.^a Dr.^a Dulcineia dae Paiva Cabral
1º. examinador

Prof. Dr. Julio Sérgio Marcolini
2º. examinador

Prof. Dr. Helio Tonnuchi
3º. examinador

Prof. Dr. Paulo Câmara Marques Pereira
4º. examinador

São Paulo, 03 de abril de 2007.

*Aos meus preciosos filhos, Guilherme, Felipe e
Nicole, fonte de inspiração para não desistir
jamaís, apesar das pedras no caminho*

*Ao Cleber, com amor, por compartilhar comigo
das muitas dificuldades ao longo da vida e
sempre me apoiar na busca das realizações dos
meus sonhos*

*Ao Prof. Titular Roberto Carlos Burini, meu
reconhecimento e eterna gratidão pela
oportunidade e preciosos ensinamentos na vida e
na ciência. Termos trabalhado juntos foi um
grande privilégio. Sinto-me honrada por ter sua
orientação*

AGRADECIMENTOS

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP de São Paulo, em nome da Profa. Dra. Bernadette D. G. M. Franco, pelas oportunidades oferecidas que muito contribuíram para meu amadurecimento pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Paulo Câmara Marques Pereira, do Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem da Faculdade de Medicina da UNESP de Botucatu pela colaboração na avaliação clínica dos pacientes.

*Aos grupos de **pacientes e controles** pela confiança e colaboração para a concretização deste estudo.*

*Ao técnico de Laboratório **Nelson de Oliveira Machado**, pela coleta de sangue dos pacientes.*

*Ao Biomédico **Fernando Moreto**, pela coleta de sangue dos controles.*

A Jorge de Lima, da Seção de Pós-Graduação da USP, pelas orientações que desmistificaram as burocracias do programa de pós-graduação.

À bibliotecária Selma Maria de Jesus da UNESP de Botucatu pela elaboração da ficha catalográfica.

Ao estatístico Hélio Rubens de Carvalho Nunes, do Grupo de Apoio à pesquisa (GAP), da Faculdade de Medicina da UNESP de Botucatu, pela orientação no tratamento estatístico dos dados.

À Ajinomoto do Brasil pela doação dos aminoácidos.

À FAPESP, pela concessão do Auxílio à Pesquisa (Proc. 99/01716-0).

RESUMO

INTRODUÇÃO: Metionina (Met), cisteína (Cys), homocisteína (Hcy) e taurina (Tau) são os quatro aminoácidos sulfurados (AAS), mas apenas a Met e Cys são incorporadas em proteínas. Os três principais produtos dos AAS, glutathione, (GSH), Hcy e Tau influenciam, principalmente, as respostas inflamatória e imune. A Tau e GSH diminuem a inflamação, enquanto que a Hcy apresenta efeito oposto. Os pacientes HIV+ apresentam baixos níveis de GSH e outros nutrientes antioxidantes, mostrando relação direta entre Cys (e GSH) com células CD₄⁺. Não se conhece o mecanismo pelo qual as mudanças na ingestão dos AAS influenciam este fenômeno. Paralelamente, as relações entre Hcy, doenças inflamatórias e alterações in vitro no comportamento das células imunes levantou ressalvas sobre a suplementação de dietas com AAS.

OBJETIVOS: investigar as vias dos AAS em pacientes HIV+ nas condições de jejum e pós-sobrecarga de Met frente à dieta habitual (DH) isolada ou acompanhada da suplementação de Cys (NAC) ou glutamina (Gln).

MÉTODOS: 12 pacientes HIV+ (6 M e 6 F, de 25 a 36 anos), sob tratamento anti-retroviral pelo esquema tríplice, sem infecções secundárias e 20 controles saudáveis (10M e 10F, 23-28 anos) foram randomicamente distribuídos para suplementação com NAC (N-acetilcisteína, 1g/d) ou Gln (20 g/d) em estudo cruzado com 7 dias de dieta separados por uma semana de washout (Wo com DH). Amostras de sangue após jejum noturno de 10 a 12 horas foram coletadas antes (M0) e após (M1) cada regime dietético. A seguir, os indivíduos ingeriram metionina (100 mg/kg), com coletas de sangue após 2 e 4 horas para a determinação da área abaixo da curva (AAC). No M0, ambos os grupos foram avaliados quanto à antropometria (IMC, kg/m²), funções glomerular

(uréia, creatinina) e hepatocelular (γ -GT), estados nutricional (albumina, cálcio, ácido fólico e vitamina B12) e antioxidante (ácido úrico, GSH, GSSG, Hcy), glicose, lipídios (triacilgliceróis e frações de colesterol) e AAS, serina (Ser), glicina (Gly), glutamato (Glu) e Gln. O grupo HIV também foi caracterizado pela carga viral e contagem de CD_4^+ e CD_8^+ . As comparações estatísticas entre os grupos e entre as dietas mostraram homogeneidade para IMC, albumina, cálcio, vitamina B12, Hcy, HDL-colesterol, uréia e creatinina. Os pacientes apresentaram valores maiores de glicose, triacilgliceróis, γ -GT, LDL-colesterol e GSSG paralelamente às menores concentrações de ácido úrico, GSH e todos os AAS, exceto Hcy. A sobrecarga de metionina igualou (pelos valores de delta) os grupos para Met, Hcy, Tau e Gln. As suplementações de NAC e Gln levaram o grupo HIV+ a concentrações maiores de GSH (NAC > Gln), atuando diferentemente em seus precursores: Gly (Gln > NAC) e Cys (NAC > Gln) e resultando em consumo similar de Ser e produção de Tau. Ambas as dietas reduziram GSSG/GSH (NAC > Gln) e apenas NAC aumentou (6 x) a Hcy. Esta última foi piorada pela sobrecarga de Met. Assim, HIV+ resulta em deficiências múltiplas de vitaminas e aminoácidos levando a menores níveis de GSH e GSSG/GSH mais elevada. Os principais problemas de menor formação de Cys e menor incorporação de Cys em GSH foram resolvidos dando-se Met, NAC e Gln aos pacientes, ainda permanecendo a desvantagem do aumento da Hcy com Met ou suplementação de NAC.

Palavras-chave: pacientes HIV+, GSH, aminoácidos sulfurados, suplementação de NAC, suplementação de glutamina.

ABSTRACT

BACKGROUND: Methionine (Met), cysteine (Cys), homocysteine (Hcy), and taurine (Tau) are the 4 sulfur-containing amino acids (SAA), but only Met and Cys are incorporated into proteins. The 3 major products of SAA, glutathione (GSH), Hcy and Tau influence, mainly, inflammatory and of immune responses. Tau and GSH ameliorate inflammation whereas Hcy has the opposite effect. HIV+ patients present low levels of GSH and other antioxidants nutrients, showing a direct relationship between Cys (and GSH) with CD₄⁺ cells. How changes in SAA intake influence this phenomenon is unknown and the relationships among Hcy, inflammatory diseases, and in vitro alterations in immune cell behavior create a cautionary note about supplementation of diets with SAA. **OBJECTIVE:** To investigate SAA pathways in HIV+ patients on fast and Met-overload (Met-OL) states after taken diet habitual without (HD) or with supplements of Cys (NAC) or glutamine (Gln). **METHODS:** 12 HIV+ (6M and 6F, 25-36 yrs old) patients under HAART without secondary infections and 20 healthy (10M and 10F, 23-28 yrs old) controls were randomly assigned to either NAC (N-acetylcysteine, 1g/d) or Gln (20g/d) diets, in a 7-day diet crossover design, separated by a 7-day washout (with HD) period. Blood samples were drawn after overnight fast before (M0) and after each dietary treatments (M1) for the resting measurements. Immediately after blood sampling all subjects started the Met-OL by ingesting at once 100 mg Met/kg BW and having the blood draw after 2 and 4 hours for the area under the curve (AUC) determination. At M0 both groups were assessed for anthropometry (BMI, kg/m²), glomerular (plasma urea and creatinina) and hepatocellular (plasma γ -

GT activity) functions, nutritional (albumin, calcium, folic acid and vitamin B12) and antioxidant (uric acid, GSH, GSSG, Hcy) states, glucose, lipids (triglycerides and cholesterol fractions) and SAA, serine (Ser), glycine (Gly), glutamate (Glu) and Gln. The HIV+ group was characterized also by viral load, CD4⁺ and CD8⁺ counts. The statistical comparisons between groups and among diets showed group homogeneity for BMI, albumin, calcium, vitamin B12, Hcy, HDL-cholesterol, urea and creatinine. The patients presented higher values of glucose, triglycerides, γ -GT, LDL-cholesterol, and GSSG along with lower concentrations of uric acid, GSH and all but Hcy amino acids. The Met-OL equalized (Δ values) the groups for Met, Hcy, Tau and Gln. NAC and Gln diets led the HIV+ group to a higher concentrations of GSH (NAC > Gln) by acting differently on its precursors: Gly (Gln > NAC) and Cys (NAC > Gln), resulting similar consumption of Ser and production of Tau. Both diets reduced GSSG/GSH (NAC > Gln) and only NAC increased (6 x) Hcy. The later was worsened by Met-OL. Thus HIV+ results in multiple deficiencies of vitamins and amino acids leading to lower levels of GSH and higher GSSG/GSH ration. The main problems of lower formation of Cys and low incorporation of Cys and Gly into GSH were greatly solved by giving Met, NAC and Gln to the patients, hence remaining the drawback of increasing Hcy with Met or NAC supplements.

Key words: HIV+ patients, glutathione, sulphur amino acids, NAC supplementation, glutamine supplementation.

LISTA DE ABREVIATURAS

2-ME: 2-mercaptoetanol

aids: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

AP-1: proteína ativadora 1

AST: aspartato amino-transferase

CD4⁺: infócito T CD4

CD8⁺: Linfócito T CD8

CD95L: ligante do receptor CD95

CDO: cisteína dioxigenase

Cis: cistina

Con-A: concanavalina A

CSD: cisteína-sulfinato descarboxilase

Cys: cisteína total

DHBS: 3,5-dicloro-2-hidroxibenzeno-sulfonato

ERO: Espécies reativas de oxigênio

GCS: gama-glutamyl-cisteinil sintetase

GM-CSF: Fator estimulador de colônia de macrófagos e granulócitos

gp120: glicoproteína 120

GR: glutathione reductase

GS: glutathione sintetase

GSH: glutathione total

GSPx: glutathione peroxidase

GSSG: glutathione oxidada

H₂O₂: peróxido de hidrogênio

HAART: Terapia anti-retroviral altamente ativa

Hcy: homocisteína total

HIV: Vírus da imunodeficiência adquirida

I- κ B: Inibidor kappa B

IL-1: interleucina 1

IL-2: interleucina 2

IL-6: Interleucina 6

INF- β : Interferon beta

LPS: Lipopolissacarídeo

MHC: complexo de histocompatibilidade principal

Na₂EDTA: sal dissódico do ácido etileno-dinitrilotetraacético

NAC: n-Acetilcisteína

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NF- κ B : fator nuclear kappa B

ODS-2: Octadecil sílica 2

Tat: proteína transativadora

TauT: transportador de taurina

T_H2: célula T auxiliadora 2

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa

AU: ácido úrico

Wo: *washout*

DH: dieta habitual

LISTA DE FIGURAS

Página

FIGURA 1	Resposta linfocitária frente ao estímulo pró-oxidante.....	5
FIGURA 2	Papel do estresse oxidativo na replicação do HIV.....	7
FIGURA 3	Metabolismo hepático da metionina e síntese de GSH...	12
FIGURA 4	Ciclo gama-glutamil.....	14
FIGURA 5	Catabolismo hepático da Cys e produção de taurina, piruvato e sulfato.....	17
FIGURA 6	Efeito da sobrecarga de metionina sobre as concentrações de aminoácidos sulfurados de controles e pacientes nas diferentes condições dietéticas.....	50
FIGURA 7	Efeito da sobrecarga de metionina sobre as concentrações de aminoácidos relacionados ao metabolismo dos aminoácidos sulfurados de controles e pacientes nas diferentes condições dietéticas.....	52
FIGURA 8	Efeito da sobrecarga de metionina sobre as concentrações plasmáticas de glutathiona e equilíbrio redox de controles e pacientes nas diferentes condições dietéticas.....	53

LISTA DE TABELAS

Pág.

TABELA 1	Caracterização demográfica e antropométrica de indivíduos sadios e infectados pelo HIV.....	36
TABELA 2	Caracterização dos pacientes infectados pelo HIV quanto aos indicadores de gravidade da doença.....	37
TABELA 3	Comparações entre as concentrações séricas de glicose e lipídios do grupo controle e pacientes infectados pelo HIV.....	38
TABELA 4	Características nutricionais do grupo controle e pacientes infectados pelo HIV.....	39
TABELA 5	Concentrações séricas de marcadores das funções renal e hepática do grupo controle e pacientes infectados pelo HIV.....	40
TABELA 6	Concentrações plasmáticas ($\mu\text{mol/L}$) de jejum dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos sadios e infectados pelo HIV na situação dietética habitual.....	41
TABELA 7	Concentrações plasmáticas de jejum da glutatona total e oxidada, ácido úrico e equilíbrio redox de indivíduos sadios e infectados pelo HIV na situação dietética habitual.....	43

TABELA 8	Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados, aminoácidos relacionados e estado redox da glutathione em indivíduos sadios submetidos à sobrecarga de metionina na situação de dieta habitual..	46
TABELA 9	Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados, aminoácidos relacionados e estado da glutathione em indivíduos infectados pelo HIV submetidos à sobrecarga de metionina na situação de dieta habitual.....	48
TABELA 10	Concentrações plasmáticas de jejum dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos sadios e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas.....	56
TABELA 11	Concentrações plasmáticas de GSH em jejum e equilíbrio redox de indivíduos sadios e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas.....	57
TABELA 12	Concentrações plasmáticas de jejum dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos sadios nas diferentes situações dietéticas.....	61
TABELA 13	Concentrações plasmáticas de jejum dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas.	62

TABELA 14	Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos saudáveis submetidos à sobrecarga de metionina na situação de suplementação com N-acetilcisteína.....	65
TABELA 15	Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos saudáveis submetidos à sobrecarga de metionina na situação de <i>washout</i>	66
TABELA 16	Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos saudáveis submetidos à sobrecarga de metionina na situação de suplementação com L-glutamina.....	67
TABELA 17	Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos infectados pelo HIV submetidos à sobrecarga de metionina na situação de suplementação com N-acetilcisteína.....	69
TABELA 18	Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos infectados pelo HIV submetidos à sobrecarga de metionina na situação de <i>washout</i>	70
TABELA 19	Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos infectados pelo HIV submetidos à sobrecarga de	

	metionina na situação de suplementação com L-glutamina.....	71
TABELA 20	Valor médio de área abaixo da curva dos aminoácidos sulfurados em indivíduos sadios e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas.....	74
TABELA 21	Valor médio de área abaixo da curva de aminoácidos relacionados ao metabolismo dos sulfurados em indivíduos sadios e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas estudadas.....	75
TABELA 22	Valor médio de área abaixo da curva da GSH em jejum e equilíbrio redox de indivíduos sadios e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas estudadas.	76
TABELA 23	Valor do delta da média de concentração pós-sobrecarga dos aminoácidos sulfurados em indivíduos sadios e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas.....	78
TABELA 24	Valor do delta da média de concentração pós-sobrecarga dos aminoácidos relacionados ao metabolismo dos sulfurados em indivíduos sadios e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas estudadas.....	79
TABELA 25	Valor do delta da média de concentração pós-sobrecarga da GSH em jejum e estado redox de indivíduos sadios e infectados pelo HIV nas diferentes	

	situações dietéticas estudadas.....	80
TABELA 26	Valor do delta da média de concentração pós-sobrecarga dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos sadios nas diferentes situações dietéticas.....	82
TABELA 27	Valor do delta da média de concentração pós-sobrecarga dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas.....	84
TABELA 28	Valor da área abaixo da curva dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos sadios nas diferentes situações dietéticas.....	86
TABELA 29	Valor da área abaixo da curva dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos infectados pelo HIV em diferentes situações dietéticas..	88

SUMÁRIO

Página

Lista de Abreviaturas	
Listas de Figuras	
Lista de Tabelas	
Resumo	
Abstract	
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Estresse Oxidativo.....	3
1.2. Defesa Antioxidante.....	7
1.3. Glutamina.....	8
1.4. CYS na Defesa do Hospedeiro.....	11
1.5. Cys na Defesa Antioxidante.....	15
1.6. Metabolismo dos Tióis nos Linfócitos.....	17
1.7. Avaliação do Estado Redox dos Aminoácidos Sulfurados e Protocolo de Sobrecarga de Metionina.....	21
2. OBJETIVOS.....	23
2.1. Geral.....	23
2.2. Específicos.....	23
3. INDIVÍDUOS E MÉTODOS.....	24
3.1. Indivíduos.....	24
3.1.1. Grupo Controle Sadio.....	24
3.1.2. Grupo de Pacientes Infectados pelo HIV.....	24

3.2. Métodos.....	25
3.2.1. Avaliação Médica.....	25
3.2.2. Avaliação Antropométrica.....	26
3.2.3. Avaliação Laboratorial.....	26
3.2.4. Teste de Sobrecarga de Metionina.....	31
3.2.5. Protocolo de Suplementação.....	33
3.2.6. Análise Estatística.....	34
3.3. Delineamento Experimental.....	35
4. RESULTADOS.....	36
4.1. Características da Amostra Estudada.....	36
4.1.1. Características Demográficas e Antropométricas.....	36
4.1.2. Gravidade da Doença.....	37
4.1.3. Estado Nutricional.....	39
4.1.4. Aminoácidos da Via Sulfurada.....	41
4.1.5. Glutathione e estado de oxido-redução.....	43
4.2. Efeito da Suplementação de Met após Dieta Habitual.....	44
4.3. Efeito das suplementações.....	54
4.4. Efeito da Sobrecarga de Metionina após Suplementação.....	64
4.5. Proporções entre Aminoácidos.....	89
4.5.1. Comportamento dos Grupos na Dieta Habitual.....	89
4.5.2. Comportamento dos Grupos na Sobrecarga Aguda de Metionina.....	91
4.5.3. Comportamento dos Grupos na Suplementação de NAC.....	91

4.5.4. Comportamento dos Grupos na Suplementação de Gln.....	93
4.5.5. Comportamento dos Grupos em ambas as Suplementações frente à Dieta Habitual.....	94
4.5.6. Comportamento dos Grupos em ambas as Suplementações frente à Dieta Washout.....	96
5 DISCUSSÃO.....	98
5.1. Características Metabólico-Nutricionais dos Indivíduos Infectados pelo HIV.....	98
5.2. Sobrecarga Oral de Metionina.....	102
5.3. Comportamento dos Grupos na Dieta Habitual.....	105
5.4. Suplementação de NAC.....	113
5.5. Suplementação de Gln.....	118
6. CONCLUSÕES.....	120
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	121
Anexos.....	149

1. INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) e a síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) expandiram-se rapidamente durante as duas últimas décadas, tornando-se uma pandemia mundial com elevado custo político e econômico. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, existem mais de 40 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo e mais de 20 milhões de mortes já foram causadas pela aids. Devido à expressiva limitação na prevenção e tratamento da infecção pelo HIV, a África se tornou o principal foco desta infecção, seguida pelo sul e leste da Ásia. Neste sentido, a aids representa a primeira causa de morte na África e a quarta causa de morte em todo o mundo (UNAIDS, 2006).

No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde (2006), já foram registrados cerca de 433 mil casos de aids de 1980 a 2004. Entretanto, se considerarmos todos os indivíduos infectados, esse número chega a 600 mil, já que em média um indivíduo infectado leva de 8 a 10 anos para começar a desenvolver os sintomas da aids e, somente então ele é notificado como um novo caso da doença.

Em trabalho anterior, foi verificado que indivíduos infectados pelo HIV, sem desnutrição protéico-energética, apresentavam elevados níveis de indicadores pró-oxidantes e diminuição de nutrientes antioxidantes. Esse quadro de estresse oxidativo dos pacientes persistiu mesmo com a presença de medicação, sugerindo o possível efeito benéfico da suplementação alimentar com nutrientes de ação antioxidante no tratamento de pacientes

infectados pelo HIV, particularmente no estágio assintomático, como adjuvante no tratamento anti-retroviral (BORGES-SANTOS, 2002).

A suplementação antioxidante em indivíduos infectados pelo HIV tem mostrado a redução do estresse oxidativo, melhora da função imune, diminuição da replicação viral e retardo da progressão da doença (TANG et al., 2000; SPADA et al., 2002; MICKE et al., 2002; SINGHAL & AUSTIN, 2002; JARUGA et al., 2002; TREITINGER et al., 2004; DE SOUZA JUNIOR et al., 2005; FAWZI et al., 2004).

A terapia antioxidante parece ser mais eficaz nos processos agudos da doença, com a presença de infecções oportunistas, onde há maior utilização de nutrientes antioxidantes, resultando no estresse oxidativo (MACALLAN, 1998).

No trabalho anterior verificou-se que os pacientes HIV+ apresentavam redução dos níveis de glutathione (GSH) e do seu aminoácido limitante cisteína (Cys), paralelamente aos níveis aumentados de glutathione oxidada (GSSG) e normais de homocisteína (Hcy) (BORGES-SANTOS, 2002). Desta maneira, os resultados obtidos apontam para o efeito positivo da suplementação com aminoácidos limitantes da síntese de GSH (L-glutamina e N-acetilcisteína) para o aumento das suas concentrações plasmáticas e conseqüente melhora da defesa antioxidante dos pacientes.

1.1. ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo é um fenômeno patológico resultante do desequilíbrio entre os sistemas produtores de espécies reativas de oxigênio (ERO) como a cadeia respiratória, atividade bactericida dos polimorfonucleares, síntese de autacóides e atividade do citocromo P450 e os sistemas de defesa antioxidante como a superóxido dismutase, peroxidase, catalase, vitamina E, beta-caroteno, vitamina C, ácido úrico, bilirrubinas e GSH (FAVIER, 1997; EVANS & HALLIWELL, 2001).

Na infecção pelo HIV, a maior causa do estresse oxidativo é o sistema imunológico, que leva à superprodução de ERO, e patologias associadas, cujos mecanismos envolvem a oxidação de ácidos nucleicos, quebras cromossômicas e peroxidação dos ácidos graxos poliinsaturados constituintes das membranas celulares (BANKI et al., 1998; KOTLER, 1998; STEHBENS, 2004; COLE et al., 2005; ERCAL et al., 2005).

O sistema imunológico do hospedeiro responde ao estresse oxidativo tanto de modo citoprotetor quanto citotóxico. Analogamente, o HIV depende do estresse oxidativo para sua ativação e replicação intracelular. O fator nuclear kappa B (NF- κ B) do linfócito tem participação central em todas as respostas.

Nos linfócitos, a resultante final de mitogenicidade ou citotoxicidade parece depender da resultante pró-oxidante/antioxidante. Nesta hipótese, a membrana celular adjacente responde ao estímulo (vírus ou envelope protéico

viral) com a produção de H_2O_2 ou ERO em quantidades proporcionais à intensidade e duração do estímulo. A produção de ERO em quantidades fisiológicas promove a mitogênese (ou ativação celular com produção de IL-2) e o excesso de ERO leva à citotoxicidade e apoptose com depleção das células B ou $CD4^+$ (PITTS, 1995) (Figura 1).

As ERO, particularmente o H_2O_2 , liberam, por ubiquitinação, o inibidor (I- κ B) complexado ao NF- κ B liberando-o para a ligação ao locus do DNA. Os genes alvo do NF- κ B são aqueles que expressam: a) citocinas imunomoduladoras (TNF- α , IL-6, β -INF, GM-CSF), b) receptores de superfície de células imunorreguladoras (antígenos MHC classe I, receptores IL-2, etc.) e c) proteínas da fase aguda (amilóide A, angiotensinogênio, etc.). Neste caso, a resultante seria a imunoestimulação e citoproteção (Figura 1).

No entanto, dentre os agentes indutores da atividade ligadora do NF- κ B ao DNA figuram o lipopolissacarídeo bacteriano, citocinas (TNF- α , TNF- β e IL-1), mitógenos de células T e o vírus. Nesse caso, o objetivo é a expressão e replicação do HIV-1 nas linhagens de célula T humana (SCHRECK et al., 1991).

A oxidação induzida pelo HIV aumenta a produção de citocinas pelas células Th_2 em resposta aos antígenos retrovirais. A proteína transativadora do HIV-1 parece induzir a “ativação da morte celular induzida” via expressão do sistema receptor (AP-1/Fas) para o ligante CD95L (EHRET et al., 1996).

Figura 1 – Resposta linfocitária frente ao estímulo pró-oxidante.

Tanto a ativação quanto a transcrição e replicação do vírus parecem ser beneficiadas pelo estresse oxidativo. A transcrição e replicação do vírus seriam estimuladas pelas ERO originadas nos neutrófilos polimorfonucleares ou pela Tat (PITTS, 1995) e a ativação do HIV no seu estado quiescente seria feita por mecanismos dependentes do NF- κ B (ISRAEL & GOUGEROT-POCIDALO, 1997).

A apoptose é resultante do estresse oxidativo e reconhecida como principal forma de morte celular dos linfócitos T CD $_4^+$ na infecção pelo HIV. Os danos parciais de DNA ou de membrana são usualmente reparados, mas os extensos levam à apoptose ou à necrose celular com liberação das enzimas lisossômicas que gerarão novas ERO (MACALLAN, 1998).

Em mecanismo semelhante, as ERO poderiam também, via Tat, levar à proliferação das células do sarcoma de Kaposi. Essas células apresentam um perfil bioquímico caracteristicamente glicolítico com baixos níveis de fosfágenos energéticos e de NADPH, conseqüentemente com menor síntese de GSH e de reparo do DNA, assim como pequena atividade da catalase e GSH redutase. Desta forma, os níveis de GSH são baixos e os de GSSG, altos. Nesse meio desfavorável, o estímulo do NF- κ B pelas ERO resulta na produção do TNF- α que induz a replicação do HIV e geração da HIV-Tat, estimulando a proliferação da célula cancerosa (MALLERY et al., 1995).

A depleção de células B pode ser induzida tanto em células normais como em células transformadas pela ligação das mesmas com a glicoproteína 120 (gp120). De acordo com a relação HIV-gp120/célula, a produção de H₂O₂/ERO pode ser baixa ou alta, levando à resposta celular mitogênica ou letal. Há evidências de que a evolução letal ocorra quando a GSH celular está depletada (MALLERY et al., 1995).

A perda das células T CD₄⁺ ocorre com elevados níveis de gp120, que acontece nas proximidades de elevada replicação do HIV (com concentrações de 50 a 11 milhões vírions do HIV). Com a redução dos vírions há uma redução da gp120 e, conseqüentemente, da apoptose de CD₄⁺ (MALLERY et al., 1995).

Os inibidores da protease previnem a carga viral enquanto que os inibidores da transcriptase reversa impedem a síntese do HIV inibindo sua integração com o genoma da célula hospedeira, em ambos o resultado é a menor ativação e replicação do HIV (MACALLAN, 1998) (Figura 2).

Figura 2 – Papel do estresse oxidativo na replicação do HIV

1.2. DEFESA ANTIOXIDANTE

As deficiências antioxidantes em indivíduos infectados pelo HIV promovem a perda de resistência resultante da desregulação citocínica provocada pelo retrovírus (WATSON, 1998). Assim, o uso de antioxidantes promove a redução do estresse oxidativo, melhora na função imunológica, diminuição da replicação do HIV e menor progressão da doença (ALLARD et al., 1998; TANG et al., 2000; JARUGA et al., 2002; GIL et al., 2005).

A terapia antioxidante, mesmo com os sucessos obtidos, não deve ser vista como substitutiva, mas sim como complementar à terapia anti-retroviral. Por razões econômicas, as terapias anti-retrovirais são limitadas a cerca de 20% dos indivíduos infectados pelo HIV no mundo. Nesse sentido, pelo seu baixo custo, é crescente o uso dos antioxidantes nessa população (KOTLER, 1998). É possível que a terapia antioxidante seja mais benéfica nos

processos agudos que nos crônicos, uma vez que o estresse oxidativo é muito maior por ocasião, por exemplo, de infecções oportunistas do que durante os períodos de estabilidade clínica (MACALLAN, 1998).

1.3. GLUTAMINA

A L-glutamina é um aminoácido neutro de 147,1 KD que transporta cerca de 1/3 do nitrogênio dos aminoácidos circulantes, é substrato para a amoniogênese renal, regula a síntese protéica, é o principal precursor da síntese de nucleotídeos, um importante substrato da ureogênese e gliconeogênese hepática. Ela é considerada um imunonutriente por atuar como substrato energético para células imunes, melhorar a função de barreira intestinal, além de ser precursora não sulfidrílica para a síntese de GSH, um antioxidante endógeno (KRAUSE & MAHAN, 1991).

Ela é um aminoácido não essencial sintetizado a partir da reação entre a amônia e o glutamato sob a ação da glutamina sintetase utilizando ATP como substrato energético.

A glutaminase, localizada nas mitocôndrias das células, hidrolisa a glutamina produzindo glutamato e amônia. No fígado, a glutamina pode sofrer transaminação e transformar os α -cetoácidos em aminoácidos.

A glutamina dietética é completamente metabolizada pelos enterócitos. Deste modo, as concentrações plasmáticas desse aminoácido são mantidas por tecidos específicos do corpo incluindo o músculo esquelético, pulmões e fígado.

A suplementação oral de glutamina livre apresenta duas principais limitações: baixa solubilidade e alta instabilidade, particularmente devido a alterações técnicas e ao tempo de estocagem.

Pacientes com infecção e injúria podem ser beneficiados pela suplementação de L-glutamina, pois apresentam proteólise acelerada, aumento da excreção de nitrogênio e balanço nitrogenado negativo, em que os aminoácidos liberados são utilizados na síntese de glicose e de proteínas de fase aguda. Paralelamente, esses pacientes apresentam acidose, que promove a absorção de glutamina pelos rins para o tamponamento do pH da urina e controle da homeostase ácido-básica (MILLER, 1999).

O metabolismo da glutamina também pode ser alterado em pacientes sépticos pela ativação de macrófagos que liberam citocinas pró-inflamatórias e estimulam a liberação de glutamina através da proteólise muscular (ASKANAZI et al., 1980).

A infecção pelo HIV também pode levar à deficiência de glutamina, associada ao desgaste muscular, particularmente no estágio aids da doença (SHABERT & WILMORE, 1996), e à alteração da permeabilidade intestinal.

Além dos benefícios para a reconstituição da integridade intestinal de indivíduos HIV+ (NOYER et al., 1998), a suplementação de glutamina pode ser benéfica para a diminuição do desgaste muscular e restauração das células do sistema imune (SHABERT et al., 1999). Paralelamente, a defesa antioxidante está marcadamente comprometida nesses pacientes e a suplementação de glutamina também pode ser efetiva na restauração dos

níveis de GSH, já que ela pode ser facilmente convertida a glutamato um dos componentes chave na síntese desse antioxidante.

Apesar de muitos estudos postularem benefícios da suplementação de glutamina em diferentes estados patológicos (ALPERS, 2006), não há um consenso sobre a dosagem ou sobre a efetividade dessa suplementação em estudos clínicos. Tal incongruência é provocada pela falta de demonstração de deficiência prévia de glutamina e estudos são mal delineados (amostra heterogênea ou em pequeno número, a suplementação de glutamina não é isolada, pacientes não apresentam estabilidade clínica).

Segundo Furst (1990), pacientes no período pós-operatório deveriam receber cerca de 13g de glutamina/dia para a manutenção da integridade intestinal e muscular enquanto que pacientes graves podem necessitar de quantidades mais elevadas variando de 27 a 40g/dia.

Hornsby-Lewis et al. (1994), suplementaram glutamina a 0,285g/kg durante 4 semanas e observaram um aumento das enzimas hepáticas em alguns pacientes obrigando-os a descontinuarem o estudo nesses indivíduos.

Mas, de modo geral, em indivíduos saudáveis ou pacientes críticos não São encontrados efeitos tóxicos da suplementação oral ou parenteral de glutamina (GARLIK, 2001).

1.4. CYS NA DEFESA DO HOSPEDEIRO

Os estudos sobre a interação entre os aminoácidos sulfurados e as células, bem como o seu papel no desenvolvimento e modulação de processos biológicos têm levado a Cys a ocupar papel de destaque no desenvolvimento da resposta antioxidante e imune, tanto pelas suas propriedades específicas, quanto pela sua participação na síntese de biomoléculas importantes ao organismo como a GSH (GSH) e a taurina.

Os compostos contendo enxofre (GSH, Cys, metionina, selenocisteína e selenometionina) nutrem o corpo, mantêm o sistema imune saudável e protegem-nos contra o câncer e doenças cardiovasculares. Paralelamente, reduzem a evolução do HIV, oxidam a lipoproteína Lp(a), detoxificam substâncias químicas nocivas e neutralizam radicais livres (SEN & PACKER, 2000).

A Cys é produzida durante o metabolismo do aminoácido essencial metionina (Met) (Figura 3) e possui inúmeras funções no organismo. Ela é encontrada na β -queratina, sendo importante tanto na produção de colágeno quanto para a elasticidade e textura da pele. Como precursora da taurina e glutathiona (GSH) ela é útil na desintoxicação do organismo e na proteção do cérebro e fígado contra o dano pelo álcool, drogas e metabólitos (BELLA & STIPANUK, 1995). Sua importância encontra-se, também, na síntese de outras substâncias bioquimicamente relevantes como a coenzima A, heparina, biotina e ácido lipóico, podendo, ainda, ser convertida em glicose e utilizada como fonte de energia. Além disso, a Cys possui um importante papel na

comunicação entre as células do sistema imune (DRÖGE et al., 1991; ANGELINI, 2002).

O fígado é o principal órgão envolvido no metabolismo dos aminoácidos sulfurados, captando principalmente Met e Cys e liberando GSH, taurina e sulfato (Figura 3). Primeiramente, a Met se condensa com uma molécula de ATP sob a ação da metionina adenosil transferase (EC 2.5.1.6) e produz a S-adenosilMet (SAM).

Figura 3 - Metabolismo hepático da metionina e síntese de GSH.

A SAM é precursora de numerosas reações de transferência de grupamentos metil e o resultado dessa transferência é a conversão da SAM em S-adenosilHcy (SAH). A SAH é, então, clivada pela S-adenosilhomocisteinase (EC 3.3.1.1), produzindo Hcy e adenosina.

A Hcy pode ser convertida novamente à Met pela metionina sintetase (EC 2.1.1.13), cuja ação é dependente de folato e vitamina B12 (via da remetilação), ou se condensar com a serina e produzir cistationina por ação da cistationina β -sintetase (EC 4.2.1.22), dependente de vitamina B6 (via da transulfuração). A cistationina é, então, clivada pela cistationinase (EC 4.4.1.1) numa reação utilizando vitamina B6, para a formação de Cys e α -cetobutirato.

Uma vez formada, a Cys é rapidamente captada e incorporada a GSH, proteína, sulfato ou taurina dependendo das necessidades das células (LU, 1999).

Nos outros tecidos, a principal fonte de Cys é a concentração plasmática de GSH e GSSG, pois apenas o fígado, pâncreas e rins podem converter Met à Cys (GRIFFITH, 1999).

A molécula da Cys é instável e se oxida facilmente a cistina e, apesar da diferenciação quanto ao tamanho, forma iônica, sistema de transporte e concentrações, elas são interconvertíveis. Ainda assim, as concentrações de Cys são extremamente baixas quando comparadas à sua forma oxidada ($15\mu\text{M}$ x $150\mu\text{M}$) (BANNAI, 1984). Dessa maneira, a disponibilidade de Cys nos fluidos corporais é baixa devido à sua oxidação, já no meio intracelular, sua concentração é elevada graças à constante ação da

GSH na manutenção do equilíbrio tiol, mantendo a Cys no seu estado reduzido (MEISTER & ANDERSON, 1983).

Outro papel importante desempenhado pela GSH é o abastecimento das células com Cys a partir do ciclo gama-glutâmil (Figura 4) (MEISTER et al., 1986; DRÖGE et al., 1991).

Figura 4 - Ciclo gama-glutâmil

1.5. CYS NA DEFESA ANTIOXIDANTE

Os nutrientes sulfurados são normalmente produzidos em plantas, homem e animais e são constituintes normais da dieta humana. A GSH e a Cys são os principais representantes antioxidantes, entretanto, a Cys é altamente instável e tóxica às células, mas pode ser modificada transformando-se em n-acetilcisteína (NAC), que é uma molécula mais estável, não apresenta toxicidade e preserva todas as ações benéficas antioxidantes atribuídas à Cys. Atualmente, a NAC vem despertando maior interesse que a própria GSH como uma alternativa para a suplementação antioxidante. A NAC é facilmente absorvida e rapidamente captada pela célula, sendo que apenas 10% do seu total permanece na circulação sanguínea. Uma vez dentro da célula, ela é rapidamente consumida na produção de GSH (LU, 1999).

A ingestão oral de NAC, em doses de até 5g, é bem tolerada pelo organismo, sendo que em quantidades superiores a esta pode ocorrer diarreia, distúrbios gastrintestinais, náusea, etc (KELLY, 1998).

A NAC bloqueia a produção de HIV *in vitro*, aparentemente, pelo aumento nos níveis de GSH nas células infectadas. Nesta redução da replicação do HIV a NAC tem a ação complementar da vitamina C, visto que esta reduz a forma oxidada (GSSG) de volta a forma ativa (reduzida) da glutathiona (GSH). Não há toxicidade conhecida para a suplementação alimentar de NAC.

O catabolismo da Cys ocorre por duas vias metabólicas: uma independente e outra dependente de cisteína-sulfinato. Os dois passos

metabólicos podem levar à produção de piruvato e sulfato, mas apenas a via dependente de cisteína-sulfinato resulta na produção de taurina (Tau) (figura 5) (BELLA & STIPANUK, 1995).

A conversão de cisteína-sulfinato a hipotaurina ou taurina é diminuída pela transaminação da Cys a piruvato e sulfato inorgânico (com resultante formação de aspartato). A hipotaurina é oxidada a Tau por mecanismo desconhecido (STIPANUK, 2004).

A Tau é um aminoácido sulfurado abundante no corpo humano, particularmente nas células do sistema imune como os fagócitos polimorfonucleares, retina, coração e intestino (STIPANUK, 2004).

Apesar dos mecanismos não serem completamente conhecidos, a Tau apresenta papel importante em numerosas funções biológicas incluindo a defesa antioxidante, estabilização de membrana, detoxificação de drogas, neuromodulação e regulação da homeostase de cálcio (STAPLETON et al., 1998).

A síntese de Tau depende da expressão e regulação da Cys dioxigenase (CDO) (EC: 1.13.11.20) e cisteína-sulfinato descarboxilase (CSD) (EC: 4.1.1.29), além da disponibilidade de Cys. Já o seu transporte depende da expressão e regulação de transportadores específicos denominados TauT e dos níveis extracelulares de Tau (TAPPAZ, 2004).

Figura 5 - Catabolismo hepático da Cys e produção de taurina, piruvato e sulfato.

1.6. METABOLISMO DOS TIÓIS NOS LINFÓCITOS

Vários tióis podem ser utilizados para a promoção do crescimento celular (BROOME & JENG, 1973) e melhora da função de linfócitos *in vitro*. Nessas células, a atividade de transporte da Cys é cerca de 10 vezes menor do que dos outros aminoácidos, atribuindo-se à Cys o fator limitante para as funções das células T demonstradas em estudos *in vitro* (BANNAI, 1984).

A proliferação de linfócitos pode ser ativada por proteínas sulfuradas localizadas tanto na membrana quanto no citosol. Essas proteínas poderiam sofrer influência dos níveis intracelulares dos tióis não protéicos, cujo principal representante é a GSH. A oferta de agente tiol redutor 2-mercaptoetanol (2-

ME) resultou no aumento da GSH intracelular paralelamente à maior proliferação blástica estimulada pela concanavalina A (Con A). Resposta semelhante foi observada com a maior oferta de Cys a essas células. Quando foi cessada a oferta de 2-ME, a proliferação linfoblástica estimulada pela Con A diminuiu, paralelamente à redução dos níveis citosólicos de GSH. Desta forma, parece que a mitogênese de linfócitos, provocada por agentes redutores tiólicos, ocorre via maior produção de GSH (ZMUDA & FRIEDENSON, 1983).

Sabe-se que os linfócitos apresentam perda de GSH tanto em repouso quanto em proliferação. Essa perda seria compensada pela oferta de tióis extracelulares, dentre os quais a Cys que, desta forma, estimularia a proliferação dos linfócitos. Em condições normais, o linfócito apresenta a GSH nas formas GSH (90%) > GSSG (10%), sendo que essa proporção pode ser invertida em patologias (ZMUDA & FRIEDENSON, 1983).

Dentre os mecanismos da proliferação linfoblástica estimulados pela GSH estão: a) proteção contra o dano oxidativo; b) ativação de enzimas dependentes de SH; c) ação como coenzima; d) participação do ciclo gama-glutamil; e) controle da formação de microtúbulo.

Por outro lado, a ativação dos linfócitos pode sofrer controle pelos radicais S-S ligados a proteínas da superfície celular. Nesse sentido, a quantidade dessas proteínas no meio intracelular estaria associada aos níveis de GSH ($\uparrow\text{GSH} \Rightarrow \downarrow\text{SS-prot}$). Com a perda de GSH haveria maior SS-proteína na membrana que influenciaria a sensibilidade da célula aos mitógenos e, assim, a proliferação celular. Dessa forma, a oferta de tióis ou reagentes SH à

célula influenciaria a mitogênese, via SS-prot na membrana e/ou GSH citosólico (ZMUDA & FRIEDENSON, 1983).

A proliferação celular dependente de SS-Prot na membrana envolve a ação de citocinas, particularmente da IL-2 que, sabidamente, estimula a resposta proliferativa de linfócitos T. Quando os linfócitos T são estimulados com mitógenos após o bloqueio dos tióis da membrana celular, a capacidade de síntese de IL-2 é preservada nessas células. Entretanto, uma piora na resposta à IL-2 exógena foi observada, sugerindo efeito do bloqueio tiólico sobre a interação desta interleucina com o seu receptor de membrana. Portanto, a oxidação dos tióis nos receptores da interleucina 2 impede a sua ligação ao receptor específico, sendo este um passo limitante para a ativação da proliferação celular (SMITH et al., 1992).

A Cys é transportada juntamente com os aminoácidos neutros pelos sistemas A, ASC e L, sendo apenas o último independente de sódio (BANNAI, 1984).

A captação da GSH pelas células renais é feita sob a forma de γ -glutamil peptídeo, sofrendo a ação de peptidases da membrana celular gerando derivados S-S ou SH. No primeiro caso, a presença de redutases transformará a cistina (S-S) em Cys (SH) (MEISTER & ANDERSON, 1983).

A captação de cistina é feita pelo Sistema Xc, próprio dos aminoácidos dibásicos, independente de sódio e com inibição competitiva do glutamato (BANNAI, 1984). Em eritrócitos, a captação de cistina é lenta e não sofre a interação com os demais aminoácidos dibásicos. Nos leucócitos, particularmente nos linfócitos T e B, a capacidade de absorção desse

aminoácido é insignificante. Por outro lado, os fibroblastos apresentam tanto os sistemas de transporte Xc como o ASC com alta capacidade de captação tanto da cistina quanto da Cys (MEISTER & ANDERSON, 1983).

Assim, células desprovidas do ciclo γ -glutamil e/ou de redutase, como os linfócitos, têm seu suprimento de Cys dependente do meio extracelular (BANNAI, 1984). Portanto, a oferta de Cys a estas células vai depender da corrente sangüínea e/ou da liberação de Cys de células próximas ou adjacentes aos linfócitos. Dentre as possíveis células liberadoras de Cys figuram o fibroblasto (ISHII et al., 1981) e o macrófago (NATHAN & TERRY, 1975).

Em linfócitos T, a ativação do NF-kB pode aumentar a replicação viral por um mecanismo dependente do estresse oxidativo. Indivíduos infectados pelo HIV apresentam concentrações diminuídas de Cys e outros tióis no plasma e no sangue total (SCHWARZ, 1996; WALMSLEY et al., 1996; REPETTO et al., 1996, LOOK et al., 1997). E sabe-se que as células T são dependentes da Cys do meio externo para a manutenção dos níveis de tióis intracelulares e, conseqüente manutenção do balanço redox intracelular e da integridade de proteínas. Nesse sentido, a administração de NAC a indivíduos com HIV poderia impedir a evolução do HIV dependente de NF-kB e retardar a progressão da aids.

Além de atuar sobre a replicação celular, a Cys também pode estimular a função de macrófagos e linfócitos. Um estudo *in vitro* com macrófagos, linfócitos e células NK de camundongos mostrou que a adição de concentrações crescentes do tiol tioprolina (thiazolidine-4-carboxylic acid)

estimulava o processo fagocítico de macrófagos, aumentando a quimiotaxia e fagocitose (de partículas inertes). Além disso, foi observado um aumento da capacidade de aderência e quimiotaxia de linfócitos, da sua atividade proliferativa e citotóxica natural, além de uma melhora da capacidade de destruir células malignas (CORREA et al., 1999).

1.7. AVALIAÇÃO DO ESTADO REDOX DOS AMINOÁCIDOS SULFURADOS E PROTOCOLO DE SOBRECARGA DE METIONINA

Os níveis plasmáticos de Cys são de difícil determinação por três razões principais: a) o grupo sulfidril (SH) da Cys é facilmente oxidado (S-S) a cistina em pH neutro e em exposição ao ar; b) reações dissulfeto (S-S) podem ocorrer entre a Cys e as proteínas sulfidrílicas como a albumina plasmática; c) a Cys produz reação colorimétrica mensurável em análise automática convencional de aminoácidos (MEISTER & ANDERSON, 1983).

A adição de n-etilmaleimida ao sangue coletado promove o bloqueio dos grupos sulfidrilas e minimiza a oxidação entre compostos sulfidrílicos, permitindo melhores resultados na determinação pelo HPLC (MANSOOR et al., 1992b).

As concentrações plasmáticas elevadas de Hcy podem ocorrer em jejum ou serem reveladas após teste oral de sobrecarga de metionina (BOSTOM et al., 1995a; FREYBURGER et al., 1997).

Vários estudos em animais e seres humanos demonstraram que a hiperhomocisteinemia revelava deficiência de alguns componentes envolvidos na metabolização da Hcy, dentre eles erros inatos enzimáticos relacionados à metilenotetrahidrofolato redutase e cistationina- β -sintetase (BOSTOM et al, 1995b; NAPPO et al, 1999) e insuficiência renal crônica (VAN GULDENER et al., 1999) com conseqüente aumento plasmático e excreção urinária de Hcy (MANSOOR et al., 1992a).

A sobrecarga de metionina foi originalmente utilizada para identificar homocistinúria em indivíduos com deficiência heterozigótica de cistationina- β -sintetase (BRENTOM et al., 1965). Ao contrário dos homozigotos, os heterozigotos têm concentrações plasmáticas de jejum normais ou discretamente elevadas. Após o teste de sobrecarga com L-metionina (100 mg/kg de peso), os heterozigotos desenvolvem aumento proporcionalmente maior e mais prolongado de Hcy plasmática do que indivíduos controle normais, sob a mesma dose de metionina. Normalmente a homocisteinemia retorna às concentrações de jejum no período de 8 a 24 horas (SELHUB & MILLER, 1992; VAN GULDENER et al., 1999).

Os passos metabólicos dos aminoácidos sulfurados podem ser alterados em decorrência de mudanças na ingestão de metionina. Tanto a via de remetilação (ou formação de Hcy) quanto a trassulfuração (formação de Cys) competem entre si pela Hcy disponível.

Adicionalmente, o teste de sobrecarga de metionina é utilizado para observar anormalidades no metabolismo de todos os aminoácidos envolvidos, possibilitando a verificação do funcionamento da via de metilação ou de

transulfuração. Uma vez que esses passos metabólicos são dependentes de enzimas específicas e cofatores vitamínicos, é possível também avaliar a eficiência enzimática e o estado das vitaminas participantes das vias de metabolização da metionina e seus derivados.

Em indivíduos saudáveis, a sobrecarga de metionina serve como um parâmetro de avaliação para desmascarar uma hiperhomocisteinemia silenciosa. Em outras palavras, o indivíduo pode apresentar valores normais de Hcy na situação de jejum, entretanto, após o teste de sobrecarga, a hiperhomocisteinemia pode ser observada em cerca de 10 % desses pacientes, funcionando como um marcador útil para doenças cardiovasculares.

Assim, de modo geral, ficou determinado que níveis de Hcy total no plasma no estado de jejum e após sobrecarga oral de metionina, podem ser considerados, respectivamente, o reflexo do estado individual de remetilação e transsulfuração. Também indicam, de maneira indireta, o estado das vitaminas B12 e folato no primeiro caso e, vitamina B6 no último (VERHOEF et al., 1997; VAN GULDENER et al., 1999). A via de transsulfuração da Hcy é provavelmente a única via qualitativamente importante para a degradação da metionina (ANDERSSON et al., 1990).

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Avaliar o efeito da suplementação de nutrientes precursores da GSH sobre o metabolismo de aminoácidos sulfurados e o equilíbrio redox em indivíduos sadios e pacientes HIV+ nas situações de jejum e estimulada (sobrecarga de metionina).

2.2. ESPECÍFICOS

1 - Caracterização dos pacientes pelos indicadores nutricionais e metabólicos.

2 – Caracterização dos pacientes pelos padrões de aminoácidos sulfurados, glutatona e seu estado de redox.

3 – Caracterização dos pacientes pelos demais aminoácidos participantes das vias de transulfuração e síntese de GSH.

4 – Avaliar o efeito da suplementação de n-acetilcisteína sobre as concentrações plasmáticas de aminoácidos sulfurados, precursores da GSH e sobre o estado redox.

5 - Avaliar o efeito da suplementação de L-glutamina sobre as concentrações plasmáticas de aminoácidos sulfurados, precursores da GSH e sobre o estado redox.

6 - Avaliar as modificações das respostas acima frente à sobrecarga aguda de metionina.

3. INDIVÍDUOS E MÉTODOS

3.1. INDIVÍDUOS

O estudo foi delineado com intervenção aleatória, cruzado com grupo controle sadio, com demanda espontânea.

3.1.1 - Grupo controle sadio

Compuseram o grupo sadio 20 indivíduos adultos (20–59 anos), 10 de cada sexo, voluntários, comprovadamente HIV negativos, pertencentes ao corpo acadêmico-administrativo da Faculdade de Medicina da UNESP (FMUNESP) de Botucatu.

3.1.2 - Grupo de pacientes infectados pelo HIV

Este grupo foi composto de 12 indivíduos 22 a 45 anos, de ambos os sexos infectados pelo HIV atendidos no ambulatório de Moléstias Infecciosas do Hospital das Clínicas da FMUNESP de Botucatu. Todos os indivíduos foram diagnosticados com base em sua história clínica, dados epidemiológicos e confirmação pelos métodos laboratoriais (ELISA e *Western Blot*) constantes do fluxograma para diagnóstico sorológico do HIV, proposto pelo Ministério da Saúde.

Foram incluídos no estudo aqueles indivíduos infectados pelo HIV, que não faziam uso de suplementos vitamínicos ou de precursores da Cys, que estavam sob medicação anti-retroviral há pelo menos um ano e que concordassem em participar do estudo e tivessem disponibilidade de ingerir os suplementos precursores da GSH. Os critérios de exclusão levaram em conta os indivíduos com alterações orgânicas que interferissem no metabolismo dos aminoácidos sulfurados como: insuficiência renal ou hepática.

Um termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado pelos participantes do estudo (Anexo 1). Os aspectos éticos da Resolução 196/96 do Ministério da Saúde foram cumpridos e o projeto aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da FMUNESP em 29/04/99 (Anexo 2).

3.2. MÉTODOS

3.2.1 - Avaliação Médica

A avaliação clínica dos indivíduos infectados pelo HIV foi realizada pelos médicos da equipe do ambulatório de Moléstias Infecciosas do Hospital das Clínicas da FMUNESP e os dados utilizados neste estudo (tempo e tipo de medicação anti-retroviral e presença de infecções secundárias) foram obtidos do prontuário de cada paciente.

3.2.2 - Avaliação antropométrica

A avaliação antropométrica incluiu as medições de peso e estatura em balança antropométrica tipo plataforma (Filizola® - São Paulo) - capacidade máxima de 150 kg e precisão de 100g. O índice de massa corporal (IMC) foi obtido a partir da relação do peso (em quilogramas) e estatura ao quadrado (em metros), utilizando-se como padrão de referência a *World Health Organization* para uso internacional (WHO, 2002).

3.2.3 - Avaliação Laboratorial

Após jejum noturno de 12 horas, foi realizada a coleta de 6 mL de sangue venoso, utilizando tubos a vácuo (com ou sem adição de etileno diamino tetracetato de potássio (K₂EDTA) como anticoagulante. Parte do sangue foi utilizada para a quantificação de linfócitos CD₄⁺ e CD₈⁺. Após centrifugação, o soro foi utilizado para análises bioquímicas gerais incluindo a determinação de glicose, colesterol total e frações (HDL-c e LDL-c), triacilgliceróis, gama glutamil transferase (GGT), uréia, creatinina, ácido úrico, cálcio, albumina, folato e vitamina B12. Uma alíquota de plasma foi utilizada para determinar a carga viral, as concentrações de aminoácidos livres, Cys e Hcy total e GSH total (GSht) e oxidada (GSSG).

- ❖ **Linfócitos T CD_4^+ e CD_8^+ :** foram determinados em citômetro de fluxo automático COULTER® T-890 utilizando anticorpos monoclonais CD_4^+ e CD_8^+ da COULTER® *Monoclonal Antibodies Reagents*.
- ❖ **Carga viral:** os níveis de RNA viral foram determinados no plasma por amplificação da sequência de ácidos nucleicos (NASBA) utilizando kits Nuclisens da Organon Teknika, Boxtel, Netherlands. O limite de detecção foi de 50 cópias/mL de plasma.
- ❖ **Glicose:** após oxidação da glicose da amostra, catalisada pela glicose oxidase, o H_2O_2 formado reage com a 4-aminoantipirina e fenol, produzindo reagente de cor vermelha de intensidade proporcional à quantidade de glicose no plasma.
- ❖ **Colesterol total:** o método utiliza reagente estável de Liebermann Burchard, composto de anidrido acético, formado a partir de ácido acético e ácido sulfúrico, que reage com o colesterol produzindo cor verde de intensidade proporcional à sua concentração plasmática.
- ❖ **HDL-colesterol:** as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e baixa densidade (LDL) são precipitadas com ácido fosfotungstico (1,5 mmol/L) e cloreto de magnésio (54 mmol/L) e após centrifugação, o colesterol ligado às lipoproteínas de alta densidade (HDL) é determinado no sobrenadante de acordo com o método para colesterol total.
- ❖ **LDL-colesterol:** esta fração de colesterol foi determinada pela fórmula de Friedwald (1972), respeitando-se o limite de triacilgliceróis menor do que 400 mg/dL.

$$LDL-c = \text{colesterol total} - (\text{triacilgliceróis}/5 + HDL-c)$$

- ❖ **Triacilgliceróis:** após hidrólise dos triacilgliceróis catalisada pela lipoproteína lipase, ocorre a liberação de glicerol, que é convertido, pela ação da glicerolquinase, em glicerol-3-fosfato. Este é oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio na presença da glicerolfosfato oxidase. O peróxido de hidrogênio produzido reage com 4-aminoantipirina e 4-clorofenol, catalisada pela peroxidase, produzindo uma quinoneína de cor avermelhada diretamente proporcional à concentração dos triacilgliceróis na amostra.

- ❖ **Gama-glutamil transferase (EC 2.3.2.2):** após catálise da transferência do grupamento glutamil da L- γ -glutamil-p-nitroanilida para a glicilglicina (adicionados à amostra) ocorre a formação de p-nitroanilina em intensidade proporcional à atividade da gama-glutamil transferase contida no plasma.

- ❖ **Uréia:** o método baseia-se na reação direta entre a uréia e diacetil monoxima, cuja reação é intensificada pela semicarbazida, produzindo composto de cor rósea proporcional à concentração de uréia na amostra.

- ❖ **Creatinina:** quantificação após reação da amostra com picrato alcalino (ácido pícrico + hidróxido de sódio) que produz complexo de cor vermelha diretamente proporcional à concentração de creatinina plasmática.

- ❖ **Ácido úrico:** o ácido úrico contido na amostra é oxidado pela uricase produzindo alantoina e peróxido de hidrogênio, que reage com 3,5-dicloro-2-hidroxibenzeno-sulfonato (DHBS) e 4-aminoantipirina formando

composto de cor vermelha proporcional à concentração de ácido úrico plasmático.

- ❖ **Cálcio:** quantificação após reação com ftaleína em meio alcalino, formando complexo de cor violeta de intensidade proporcional à quantidade de cálcio na amostra.
- ❖ **Albumina:** o método baseia-se na reação colorimétrica com o verde de bromocresol tamponado, dando origem a um composto de cor verde de intensidade proporcional à albumina plasmática. Todos os indicadores bioquímicos mencionados anteriormente foram determinados pelo método de química seca utilizando-se kits comerciais da Jonhson&Jonhson® (Ortho Clinical Diagnostics) para o auto-analisador Vitros 750.
- ❖ **Folato:** quantificado no soro por imunoensaio competitivo, em fase líquida, marcado com ligando quimiluminescente que compete pelo anticorpo monoclonal específico para a proteína ligante de ácido fólico.
- ❖ **Vitamina B12:** método de imunoensaio competitivo em fase líquida. Após tratamento com ditiotreitol e hidróxido de sódio/cianeto de potássio, a amostra contendo vitamina B12 compete pelo Fator Intrínseco de porco (HIF) contido na esfera de reação. Esse complexo HIF-vitamina B12 se liga posteriormente ao anticorpo monoclonal HIF específico marcado com fosfatase alcalina.

Tanto o folato quanto a vitamina B12 foram determinados utilizando kits comerciais da DPC® – Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA para o equipamento IMMULITE 2000.

- ❖ **Aminoácidos livres:** foram quantificados no plasma: metionina, serina, taurina, glutamina, glutamato e glicina. Após adição do padrão interno (γ -hidroxilisina), a amostra foi desproteinizada com ácido acetilsalicílico a 30%, centrifugada e o sobrenadante utilizado para a derivatização com o-ftalaldeído (OPA). Uma alíquota foi então injetada em coluna ODS-2 (150 x 4,6mm; 5 μ m), protegida por pré-coluna, ambas da Waters® Corporation, Milford, MA - USA. A análise foi feita utilizando-se sistema de eluição por gradiente binário contendo tampão fosfato (0,015mol/L; pH:7,1)/metanol/tetrahidrofurano (99:0,5:0,5 v/v) como fase móvel A e tampão fosfato (0,015mol/L; pH:7,1)/acetonitrila/metanol (45:15:45 v/v) como fase móvel B a uma taxa de fluxo de 0,8 mL/min. O detetor de fluorescência foi selecionado em 340nm de excitação e 450nm de emissão (QURESHI et al., 1984; HALAWA et al., 1991).
- ❖ **Cys e Hcy total:** o plasma para a determinação dos níveis totais de Hcy e Cys foi incubado com tri-n-butilfosfina a 10% em dimetilformamida (TBP) a 4°C durante 30 minutos. Após desproteinização com ácido tricloroacético a 10%, o sobrenadante foi incubado com 7-fluorobenzo-2-oxa-1,3-diazol-4-sulfonato (SBD-F) a 60°C durante 60 minutos. Uma alíquota da amostra foi, então, injetada em coluna ODS-2 (150 x 4,6mm; 5 μ m) acoplada a uma pré-coluna, ambas da Waters® Corporation, Milford, MA - USA e eluída isocraticamente em tampão fosfato (0,1mol/L; pH:2,1) contendo 4% de acetonitrila a um fluxo de 2mL/min. O detetor de fluorescência foi selecionado em 385nm de excitação e 515nm de emissão (UBBINK et al., 1991).

❖ **GSH total, oxidada e reduzida:** Após incubação com ditioneitol (DTT) a 4°C durante 5 minutos, o plasma para GSH total foi desproteinizado com ácido perclórico (25mL/L) e o sobrenadante armazenado para análise posterior. No momento da análise, uma alíquota da amostra foi derivatizada com o-ftalaldeído (OPA) e injetada em coluna ODS-2 (150 x 4,6mm, 3µm). A fase móvel utilizada era constituída de tampão propionato (0,021mol/L; pH:6,5): acetonitrila (95:5 v/v) eluindo a um fluxo de 1mL/min. Para a determinação da GSH oxidada, o sangue foi previamente bloqueado com n-etilmaleimida (NEM) e o plasma processado como GSH total. O detetor de fluorescência foi selecionado em 340nm de excitação e 420nm de emissão. A quantificação foi feita por meio de curva de padrões externos. A fração reduzida da GSH (GSH) foi obtida pela diferença entre GSht e GSSG (PARONI *et al.*, 1995).

Os aminoácidos livres, Cys, Hcy e GSH foram analisados no cromatógrafo líquido de alto desempenho modelo LC-10A acoplado a um detector de fluorescência RF 535 ambos da Shimadzu Corporation, Tóquio - Japão.

3.2.4. - Teste de sobrecarga de metionina

Todos os indivíduos foram submetidos ao teste de sobrecarga de metionina antes e após receberem a suplementação de L-glutamina (20 g/dia) ou N-acetilcisteína (1 g/dia) pelo período de uma semana. Foi adotado um

intervalo de sete dias sem suplementação entre os dois regimes dietéticos (*washout*)

No protocolo de sobrecarga foi oferecido 100 mg de L-metionina (Ajinomoto, Teaneck, NJ) por kg de peso corporal (BRENTON et al., 1965; REFSUM & UELAND, 1998), diluída em 200 mL de suco de laranja e um jejum padronizado, restrito em metionina (<14 mg) (BOERS et al., 1985; UELAND & REFSUM, 1989; CLARKE et al., 1991; FRANKEN et al., 1994; BOSTON et al., 1995b), que constava de: um copo (200 mL) de chá ou café adoçado com açúcar; uma unidade de pão francês com 6g de margarina e uma fruta (maçã ou banana nanica).

Após obtenção dos resultados dos aminoácidos na situação de jejum, 2 e 4 horas após a sobrecarga de metionina, foi calculada a área abaixo da curva de acordo com o modelo matemático proposto por Tai (1994).

3.2.5 - Protocolo de Suplementação

O protocolo de suplementação dietética foi aplicado pela equipe de nutricionistas do CeMeNutri aos indivíduos do grupo controle e pacientes ambulatoriais selecionados para o estudo. Todos os participantes foram suplementados com L-glutamina da Ajinomoto, teaneck, NJ (20g/d) em solução e NAC da Ajinomoto, teaneck, NJ (1000 mg/d) em cápsulas complementarmente a dieta habitual durante uma semana (Delineamento Experimental). A ordem de suplementação foi aleatória e, posteriormente, os indivíduos foram submetidos a um período de sete dias de *washout*. Após o

washout o indivíduo que havia recebido NAC passou a receber Gln e vice-versa. Antes e após cada período de suplementação, todos os indivíduos foram submetidos ao teste de sobrecarga de metionina e coleta de sangue (no jejum e 2 e 4 horas após a sobrecarga) para as análises laboratoriais (BOSTON et al., 1995b) intervalo de tempo que compreende o pico de concentração plasmática de Hcy.

3.2.6. - Análise Estatística

Foi feito um resumo descritivo das variáveis Met, Ser, Tau, Cys, Gln, Glu, GSH, GSSG, Gly e Hcy por grupo e em cada momento: DH, CYS, Wo e Gln.

Para comparar os grupos em relação a cada variável em cada momento foi utilizado o teste t de Student para amostras independentes ou o teste de Wilcoxon & Mann – Whitney para amostras independentes quando o teste de Shapiro Wilk mostrava evidências para rejeitar a hipótese de normalidade das amostras.

A comparação entre os momentos com relação a cada variável dentro de cada grupo foi feita utilizando-se o teste F de Snedecor via análise de variância para amostras relacionadas ou o teste de Friedman para amostras relacionadas quando as pressuposições de normalidade (analisada pelo teste de Shapiro Wilk) e homogeneidade (feita pelo teste de Levene) de variâncias não eram atendidas. Para as comparações múltiplas entre dois momentos, foi utilizado o teste de Bonferroni (para amostras normais) ou o teste de Dunn (para grupos heterogêneos).

Em todos os testes citados o nível de significância adotado foi de $\alpha = 0,05$. O processador de dados utilizado foi o SPSS, versão 1.2.

3.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

* avaliação nutricional

** sobrecarga de Met e análise de: Met, Hcy, Cys, Glu, Gly, Gln, Ser, Tau, GSH e GSSG

M=momento inicial
M1=M2=M3=1 semana
NAC=N-acetilcisteína: 1000mg/dia
GLN= Glutamina: 20g/dia
WO= Washout
DH=dieta habitual

🌱 Comparação entre grupos
🌱 Comparação entre momentos
🌱 $p < 0,05$

4. RESULTADOS

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

4. Características da amostra estudada

4.1.1. Características demográficas e antropométricas

As comparações das variáveis demográficas e antropométricas entre pacientes e controles encontram-se na Tabela 1.

Segundo o diagnóstico nutricional obtido pelo IMC (WHO, 1998), no grupo controle, 50% dos indivíduos (6 mulheres e 4 homens) eram eutróficos, 40% (3 mulheres e 5 homens) eram sobrepeso grau I e 10% (1 homem e 1 mulher) eram sobrepeso II. No grupo de pacientes 58% (todas as 6 mulheres e apenas um homem) eram eutróficos, 33,3% (4 homens) eram sobrepeso grau I e 8,3% (um homem) com sobrepeso grau 2. De modo geral, ambos os grupos foram classificados como sobrepeso I, sem diferença estatística entre eles (Tabela 1).

Tabela 1 – Caracterização demográfica e antropométrica de indivíduos sadios e infectados pelo HIV.

VARIÁVEIS	CONTROLES	PACIENTES	VALOR DE P
Idade (anos)	24 (23 - 28) ¹	27 (25 -36)	0,070
IMC (kg/m ²)	25 (3,1) ²	25 (3,0)	0,960

IMC: índice de massa corporal

¹Mediana(P25-P75)

²Média (desvio-padrão)

4.1.2. Gravidade da doença

A caracterização do grupo de pacientes quanto à gravidade da doença pela carga viral encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2 – Caracterização (em média $\pm$ desvio padrão) dos pacientes infectados pelo HIV quanto aos indicadores de gravidade da doença.

Sexo	F	M	M + F	Valor de p
Carga viral (log)	2,73 $\pm$ 0,76	3,65 (1,17)	3,2 (1,1)	0,139
CD ₄ ⁺ (cél./mm ³)	421 (59)	306 (121)	364 (109)	0,063
CD ₈ ⁺ (cél./mm ³)	841 (407)	1108 (556)	975 (485)	0,365
CD ₄ ⁺ /CD ₈ ⁺	0,64 (0,39)	0,33 (0,20)	0,49 (0,34)	0,116

Durante o estudo, nenhum indivíduo apresentou sinais ou sintomas de infecções secundárias e todos os pacientes faziam uso do esquema tríplice de tratamento anti-retroviral.

A carga viral esteve abaixo de 10.000 cópias/mL em todas as mulheres do estudo, já no grupo de homens, 2 deles apresentaram valores acima de 50.000 cópias/mL. Os valores de CD₄⁺ estiveram abaixo de 350 cél./mm³ em 4 homens (inclusive naqueles com carga viral acima de 50.000 cópias/mL). Todas as mulheres apresentaram CD₄⁺ acima de 350 cél./mm³. Os linfócitos T CD₈⁺ apresentaram-se discretamente aumentados em 4 indivíduos (1mulher e 3 homens) e a relação CD₄⁺/CD₈⁺ manteve-se invertida em todos os indivíduos. Apesar dos resultados individuais discrepantes, todos os indivíduos

foram classificados como assintomáticos e nenhuma das variáveis mostrou diferença significativa entre homens e mulheres.

Com relação às outras variáveis laboratoriais analisadas, foram observados 9 indivíduos com hipercolesterolemia (6 homens e 3 mulheres), 8 com diminuição de HDL-colesterol (4 homens e 4 mulheres), 9 com elevação de LDL-colesterol (4 homens e 5 mulheres), 5 hiperglicêmicos (4 homens e 1 mulher) e 8 hipertrigliceridêmicos (5 homens e 3 mulheres) (Tabela 3).

Exceto a HDL, que se comportou de maneira semelhante nos dois grupos estudados, os pacientes apresentaram concentrações médias significativamente maiores de todas as outras variáveis. Entretanto, a glicemia permaneceu dentro da normalidade e a LDL-c na faixa limítrofe, a HDL-c ligeiramente diminuída e colesterol total e triacilgliceróis acima do valor de referência para a população saudável (Tabela 3).

Tabela 3 – Comparações entre as concentrações séricas de glicose e lipídios do grupo controle e pacientes infectados pelo HIV.

VARIÁVEIS	CONTROLES	PACIENTES	VALOR DE P
Glicose (mg/dL)	87 (83,5 - 91) ¹	103 (93,5 - 117)	0,001
Triacilgliceróis (mg/dL)	88 (66,5 - 117)	191 (111 - 247)	0,002
Colesterol Total (mg/dL)	165,6 ± 26,7 ²	222 ± 45,6	< 0,001
HDL-c (mg/dL)	52,5 ± 19,9	38,3 ± 17,9	0,052
LDL-c (mg/dL)	90,6 ± 32,9	146,7 ± 31,6	< 0,001

¹Mediana(P25-P75)

²Média (desvio-padrão)

4.1.3. Estado Nutricional

Os parâmetros bioquímico-nutricionais dos grupos encontram-se na Tabela 4.

Todos os indivíduos do grupo controle apresentaram concentrações séricas dentro do valor de referência para albumina, folato e vitamina B12. No grupo de pacientes, 3 homens apresentaram hipoalbuminemia (todos sobrepeso I) e 7, hipofolacemia (5 homens e 2 mulheres). As concentrações de vitamina B12 e cálcio permaneceram dentro da faixa de normalidade e sem diferença entre os grupos. Apesar dos resultados observados, quando comparados ao grupo controle, os pacientes apresentaram concentrações médias significativamente menores apenas de folato sérico ($p=0,017$) (Tabela 4).

Tabela 4 – Características nutricionais do grupo controle e pacientes infectados pelo HIV.

VARIÁVEIS	CONTROLES	PACIENTES	VALOR DE P
Albumina(mg/dL)	4,1 (0,3)	3,9 (0,4)	0,112
Folato (ng/mL)	7,5 (6,3 - 9,0)	1,9 (1,4 - 6,6)	0,017
Vitamina B ₁₂ (pg/mL)	288 (130)	367 (139)	0,115
Cálcio (mg/dL)	9,2 (9,0 - 9,4)	8,7 (7,8 - 9,6)	0,425

¹ Mediana (P25-P75)

² Média (desvio-padrão)

Apenas um homem do grupo controle apresentou concentrações de GGT e outro de uréia acima do intervalo de referência. O restante das variáveis estava dentro do limite de referência para a população (Tabela 5).

No grupo de pacientes observou-se alteração da função hepática dada pelas concentrações elevadas de GGT em 6 indivíduos (5 mulheres e 1 homem), mostrando significância estatística quando comparados com o grupo controle (Tabela 5).

O aumento de uréia foi observado apenas em 3 pacientes do sexo feminino (25%), mas o grupo como um todo apresentou função renal preservada, semelhante aos controles, avaliada tanto pelas concentrações de uréia como de creatinina.

Tabela 5 – Concentrações séricas de marcadores das funções renal e hepática do grupo controle e pacientes infectados pelo HIV.

VARIÁVEIS	CONTROLES	PACIENTES	VALOR DE P
GGT (UI/L)	24,9 ± 14,7	52,7 ± 21,7	< 0,001
Uréia (mg/dL)	29,0 ± 7,4	34,1 ± 6,4	0,061
Creatinina (mg/dL)	0,9 (0,83 - 1,1)	0,9 (0,8 - 1,05)	0,726

4.1.4. Aminoácidos da via sulfurada

As concentrações plasmáticas de jejum dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos saudáveis e infectados pelo HIV na situação dietética habitual encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6 – Concentrações plasmáticas ($\mu\text{mol/L}$) de jejum dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos saudáveis e infectados pelo HIV na situação dietética habitual.

AMINOÁCIDOS	CONTROLES	PACIENTES	VALOR DE P
Metionina	30,8 (8,8)*	20,0 (6,6)	0,003
Serina	108,2 (7,8)	86,9 (20,1)	0,0037
Hcy	13,9 (5,5)	9,8 (1,6)	0,080
Cys	413,2 (174,7)	157,9 (10,4)	< 0,0001
Taurina	63,2 (3,9)	48,1 (3,7)	< 0,00001
Glutamato	94,0 (18,5)	56,4 (11,3)	< 0,00001
Glicina	485,1 (68,5)	371,3 (20,2)	< 0,0001
Glutamina	476,4 (83,9)	284,92 (59,3)	< 0,0001

Dos aminoácidos estudados, a Hcy apresentou-se como a principal alteração no grupo de indivíduos saudáveis. Apenas 35% da amostra tiveram concentrações abaixo de 10 $\mu\text{mol/L}$. Valores entre 10 e 15 $\mu\text{mol/L}$ foram observados em 25% dos indivíduos e a maioria deles (40%) apresentou hiper-

homocisteinemia, com valores acima de 15 $\mu\text{mol/L}$, ultrapassando 20 $\mu\text{mol/L}$ em 5 indivíduos (3 M e 2 F).

Com relação à metioninemia, 20% da amostra apresentou valores discretamente elevados (acima de 40 $\mu\text{mol/L}$), já a glutamina esteve diminuída em 25% dos indivíduos (abaixo de 396 $\mu\text{mol/L}$). Para o restante das variáveis estudadas, as concentrações plasmáticas permaneceram dentro da faixa de normalidade.

A avaliação do grupo de pacientes mostrou que as concentrações plasmáticas de metionina, taurina, glutamato, glicina e Hcy estiveram dentro da normalidade. Ressalta-se, ainda que a homocisteinemia apresentou-se abaixo de 10 $\mu\text{mol/L}$ em 50% dos pacientes estudados. No restante das variáveis analisadas, algumas alterações foram mais evidentes que outras. A serina e Cys ficaram abaixo do valor de referência em apenas dois indivíduos cada, no entanto a glutamina caracterizou como deficientes 92% da amostra.

As concentrações médias foram significativamente diferentes para todas as variáveis estudadas, com exceção da Hcy, quando os dois grupos foram comparados.

Apesar dos indivíduos apresentarem valores dentro da normalidade para metionina, taurina, glutamato e glicina, a comparação entre grupos revelou concentrações significativamente menores nos pacientes. A diferença chegou a 40% para glutamato, 35% para metionina, 24% para taurina e 23% glicina.

Com relação às outras variáveis, a maior deficiência foi notada para a Cys (62%), seguida pela glutamina (40%) e serina (20%).

4.1.5. Glutathiona e estado de oxido-redução

Na Tabela 7 encontram-se as concentrações de jejum de glutathiona total, oxidada, equilíbrio redox e ácido úrico de controles e pacientes na condição de dieta habitual.

Tabela 7 – Concentrações plasmáticas de jejum da glutathiona total e oxidada, ácido úrico e equilíbrio redox de indivíduos sadios e infectados pelo HIV na situação dietética habitual.

VARIÁVEIS	CONTROLES	PACIENTES	VALOR DE P
GSH ($\mu\text{mol/L}$)	8,6 (7,9 - 10,0)	5,1 (4,1 - 5,5)	< 0,001
GSSG ($\mu\text{mol/L}$)	0,6 (0,2 - 0,8)	1,2 (1,1 - 1,9)	<0,001
GSSG/GSH ($\mu\text{mol/L}$)	0,077 (0,07)	0,292 (0,06)	<0,001
AU (mg/dL)	4,8 (3,9 - 5,4)	2,3 (2,1 - 3,1)	< 0,001

AU: ácido úrico

As concentrações de GSH estavam dentro da normalidade para o grupo controle. Entretanto, o equilíbrio redox, dado pela relação entre a glutathiona reduzida e oxidada, foi de 12/1 e estava discretamente aumentado, já que o esperado para a população saudável é a proporção de 10/1.

Todos os pacientes tiveram concentrações de GSH abaixo e GSSG acima dos valores de referência. Com isso, a relação GSSG/GSH ficou elevada, com 67% dos pacientes apresentando relação superior a 0,2 e 33%

deles acima de 0,3; ou seja, bem acima da relação esperada em condições normais que é de 0,1.

O equilíbrio redox estava notoriamente pior no grupo de pacientes, que apresentou, em média, 87% de aumento em relação aos controles ($0,077 \times 0,292$).

Houve diminuição de ácido úrico em 7 indivíduos (58,3%), significativamente menores em relação ao grupo controle.

4.2. Efeito da sobrecarga de metionina após dieta habitual

O efeito da sobrecarga de metionina sobre as concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados, aminoácidos relacionados e estado redox da glutatona em indivíduos sadios submetidos à sobrecarga de metionina na situação de dieta habitual encontram-se na Tabela 8 e figuras 6 a 8.

As respostas foram variadas, com tendência à queda de alguns e elevação de outros aminoácidos. Com relação à Met, Hcy e Glu houve elevação significativa dos valores após 2 horas de sobrecarga de metionina, com permanência da alteração após 4 horas. As concentrações de serina diminuíram significativamente após 2 horas de sobrecarga, indicando consumo desse aminoácido na via de transulfuração, já que a Hcy necessita ser condensada com a serina para a geração de Cys.

Os valores plasmáticos de Hcy dos controles aumentaram cerca de duas vezes após 2 horas da ingestão de metionina e triplicaram o valor em 4

horas. Apesar disso, a diferença entre concentrações pré e pós-teste resultou no valor de 28,1 que está bem abaixo de 33 $\mu\text{mol/L}$, limite considerado normal.

Depois da Met com 1780% e Hcy com 136%, a Tau foi o aminoácido mais responsivo à sobrecarga de metionina. Suas concentrações elevaram-se já em 2 horas de sobrecarga, demonstrando a dinâmica do passo de transulfuração. Paralelamente suas concentrações aumentaram mais lenta e progressivamente, ao contrário dos demais aminoácidos, cujas concentrações tenderam a alcançar valores de pico seguido de platô.

A elevação da Tau chegou a 50% nas primeiras 2 horas e 204% após 4 horas de sobrecarga de metionina.

Tabela 8 – Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados, aminoácidos relacionados e estado redox da glutatona em indivíduos saudáveis submetidos à sobrecarga de metionina na situação de dieta habitual.

VARIÁVEL	JEJUM	2H	4H	DELTA DA MÉDIA	ÁREA ABAIXO DA CURVA
Met	26,8 (24,1 - 38,7) ^A	504 (449 - 740) ^B	542 (488 - 788) ^B	493 (448 - 731)	1565 (1423 - 2323)
Met	11,2 (9,9 - 19,5) ^A	26,2 (21,1 - 43,0) ^B	34,3 (25,6 - 49,1) ^B	18,5 (13,8 - 24,3)	96,0 (77,1 - 145)
Ser	106 (101 - 115) ^A	96 (91 - 104) ^B	105 (101 - 114) ^A	-5,7 (0,46)	411 (29,8)
Cys	317 (268 - 593) ^A	273 (244 - 548) ^A	286 (242 - 440) ^A	286 (242 - 440)	-32,3 (68,1 - -9,6)
Tau	62,3 (61,3 - 66,1) ^A	93,7 (91,8 - 100) ^B	189,6 (184 - 199) ^C	79,3 (5,56)	443 (28,4)
Glu	94,0 (18,5) ^A	95,1 (19,2) ^A	90,7 (15,9) ^A	-1,115 (5,62)	375 (71,3)
Gly	504 (493 - 515) ^A	493 (481 - 501) ^A	488 (472 - 499) ^B	-13,6 (-20,1 - -4,8)	1973 (1939 - 2015)
Gln	439 (429 - 537) ^A	598 (508 - 626) ^B	584 (509 - 642) ^B	113 (79,7)	2244 (361)
GSH	8,6 (7,9 - 10,0) ^A	8,4 (7,7 - 9,3) ^A	8,4 (7,7 - 9,2) ^A	-0,085 (-0,7 - 0,42)	33,8 (31,0 - 37,3)
GSSG	0,59 (0,2 - 0,78) ^A	0,6 (0,23 - 0,83) ^A	0,83 (0,53 - 1,0) ^A	0,06 (0,486)	2,55 (1,6 - 3,42)
GSSG/GSH	0,07 (0,03 - 0,1) ^A	0,078 (0,03 - 0,1) ^A	0,09 (0,05 - 0,11) ^A	0,0129 (0,051)	0,341 (0,23)

Letras diferentes: $p < 0,05$

Também houve elevação da Gln após 2 horas de sobrecarga, mas apesar de significativo, o aumento de 36% foi discreto quando comparado às alterações observadas para os outros aminoácidos (Met, Hcy e Tau).

A diminuição de 3% Gly, apesar de significativa do ponto de vista estatístico, é irrelevante biologicamente, já que se trata de um aminoácido abundante e com as concentrações plasmáticas dos pacientes dentro da normalidade.

A Cys, Glu e GSH não sofreram alteração decorrente da sobrecarga de metionina e nem o equilíbrio redox (GSSG/GSH).

O efeito da sobrecarga de metionina sobre as concentrações dos aminoácidos estudados e estado redox da glutatona em indivíduos infectados pelo HIV pode ser observado na Tabela 9 e figuras 6 a 8.

Os valores plasmáticos de metionina aumentaram cerca de 20 vezes no grupo controle após o teste de sobrecarga oral, sem diferença estatística entre 2 e 4 horas. Os pacientes apresentaram a mesma resposta frente ao teste e, mesmo partindo de deficiência em relação aos controles no momento basal (jejum) e depois de 2 horas (com $p < 0,05$ nas duas situações), suas concentrações foram equivalentes no final de 4 horas (Tabela 9 e Figura 6).

Desta maneira, para a mesma dose de metionina ingerida, o grupo de pacientes aumentou proporcionalmente mais em relação aos controles (23 x 20 vezes em 2 horas e 32 x 20 vezes em 4 horas). Essa diferença na resposta à sobrecarga evidenciou-se apenas no cálculo pela área abaixo da curva, já que os valores do delta da média foram semelhantes nos dois grupos estudados.

Tabela 9 – Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados, aminoácidos relacionados e estado da glutatona em indivíduos infectados pelo HIV submetidos à sobrecarga de metionina na situação de dieta habitual.

VARIÁVEL	JEJUM	2H	4H	DELTA DA MÉDIA	ÁREA
Met	16,7 (15,1 - 26,6) ^A	385 (333 - 518) ^B	530 (474 - 759) ^B	488 (139)	1459 (430)
HeY	9,7 (8,5 - 11,2) ^A	15,4 (14,5 - 17,4) ^B	18,5 (15,5 - 21,8) ^B	7,7 (3,49)	60,9 (6,15)
Ser	86,9 (20,1) ^A	60,8 (14,8) ^B	66,5 (17,9) ^B	-18,3(33,4 - 13,0)	300 (250 - 308)
Cys	157 (151 - 166) ^A	141 (136 - 149) ^B	172 (164 - 193) ^A	-32,3 (-68,1 - -9,6)	1116 (1014 - 2154)
Tau	48,4 (45,9 - 51,0) ^A	92,2 (54,9 - 104) ^B	162 (157 - 167) ^C	75,1 (11,8)	379 (51,6)
Glu	56,3 (11,3) ^A	56,8 (11,6) ^A	54,5 (11,1) ^A	-0,704 (0,96)	224 (45,4)
Gly	371 (363 - 378) ^A	331 (240 - 385) ^A	362 (328 - 381) ^A	-20,9 (-53,0 - -5,5)	1352 (183)
Gln	258 (244 - 337) ^A	359 (346 - 400) ^B	353 (344 - 424) ^B	93,9 (57,4 - 104)	1386 (258)
GSH	4,9 (0,66) ^A	5,4 (0,36) ^B	4,67 (0,55) ^A	0,121 (0,457)	20,4 (1,50)
GSSG	1,44 (0,40) ^A	1,55 (0,36) ^A	1,51 (0,41) ^A	0,09 (0,302)	6,06 (1,31)
GSSG/GSH	0,29 (0,06) ^A	0,287 (0,062) ^A	0,323 (0,070) ^A	0,013 (0,064)	1,19 (0,20)

Letras diferentes: $p < 0,05$

Comparados aos controles, os pacientes não conseguiram o mesmo desempenho no teste, mesmo partindo de concentrações basais semelhantes, mas os valores chegaram a dobrar em 2 horas, com pouca alteração em 4 horas. A diferença entre os dois grupos se tornou significativa em 2 horas e foi mantida mesmo 4 horas após o teste (Figura 6).

A menor resposta à sobrecarga dos pacientes em relação aos controles foi confirmada pela diferença significativa tanto para o delta da média quanto para a área abaixo da curva (Figura 6).

As concentrações de Cys alteraram-se discretamente, diminuindo 10% após 2 horas e elevando-se 22% após 4 horas, superando os valores basais. Entretanto, quando analisada sob o delta da média ou área abaixo da curva, observou-se resposta significativamente menor comparada aos controles (Figura 6).

Figura 6 - Efeito da sobrecarga de metionina sobre as concentrações de aminoácidos sulfurados de controles e pacientes nas diferentes condições dietéticas.

Depois da Met, a maior resposta observada foi para a Tau, cujas concentrações plasmáticas aumentaram 90% em 2 horas (alcançando os valores dos controles) e 235% em 4 horas após a sobrecarga de metionina. Comparados aos controles, essa resposta foi evidentemente maior em 2 horas (50,4% x 90%) do que em 4 horas, onde os grupos se equivaleram (aumento de 3 e 3,3 vezes, respectivamente). A resposta à sobrecarga estimada pelo delta da média não mostrou diferença entre controles e pacientes, já a área abaixo da curva confirmou resposta significativamente menor nos pacientes (Figura 6).

Quanto à serina, a queda foi maior nas 2 horas após a sobrecarga e, apesar do aumento significativo em 4 horas, as concentrações ainda estavam abaixo daquelas observadas no jejum.

Frente à sobrecarga de Met, os pacientes apresentaram maior proporção de diminuição de serina (22%) e menos eficiente, pois ao contrário dos controles, suas concentrações não alcançaram os valores basais depois de 4 horas de teste. Cabe ressaltar que as concentrações de serina eram significativamente menores do que os controles no início do estudo e permaneceram nesta situação até o final do teste de sobrecarga de metionina na condição de dieta habitual (Figura 7).

As concentrações de Glu e Gly não foram modificadas em decorrência da sobrecarga de metionina em nenhum dos grupos estudados. O delta da média também não mostrou diferença entre os grupos. Apenas a área abaixo da curva discriminou controles de pacientes, em que os últimos apresentaram valores significativamente menores para os dois aminoácidos em questão (Figura 7).

Figura 7 - Efeito da sobrecarga de metionina sobre as concentrações de aminoácidos relacionados ao metabolismo dos aminoácidos sulfurados de controles e pacientes nas diferentes condições dietéticas.

◆ controles
■ pacientes

* $p < 0,05$; Co: controles; HIV+: pacientes HIV+; AAC: área abaixo da curva

Figura 8 - Efeito da sobrecarga de metionina sobre as concentrações de glutatona e equilíbrio redox de controles e pacientes nas diferentes condições dietéticas.

As concentrações de Gln aumentaram praticamente na mesma proporção que os controles frente à sobrecarga (39,1% x 36,2% em 2 horas e 36,8% x 33% em 4 horas para pacientes e controles, respectivamente, em relação aos valores de jejum para cada grupo). Desta maneira, o delta da média não acusou diferença entre os grupos, mas pela área abaixo da curva, observou-se resposta significativamente inferior para os pacientes HIV+ (Figura 7).

Para a GSH houve indicação de síntese após 2 horas de sobrecarga com aumento de 10% nas concentrações plasmáticas. Entretanto, 4 horas após os valores já haviam retornado aos patamares pré-sobrecarga (Figura 8).

O delta da media foi semelhante nos dois grupos, porem a resposta pela área abaixo da curva mostrou valores significativamente inferiores para os pacientes (Figura 8).

Como observado nos controles a sobrecarga de metionina não alterou as concentrações de GSH oxidada, nem o equilíbrio redox dos pacientes. Entretanto, para os valores de delta da media e área abaixo da curva os pacientes apresentaram valores significativamente maiores, dado o estado de oxidação prévio maior desses indivíduos (Figura 8).

4.3. Efeito das suplementações

Na Tabela 10 encontram-se as concentrações plasmáticas de jejum de aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados de indivíduos sadios e infectados pelo HIV sob as situações dietéticas estudadas.

A comparação entre os grupos mostrou elevação nas concentrações de metionina dos pacientes frente às suplementações de NAC e Gln. Em outras palavras, a metioninemia que na DH era significativamente menor nos pacientes, após suplementação se igualou ao grupo controle. Durante o Wo as concentrações de metionina dos pacientes foram mantidas, de maneira que a diferença observada entre os grupos foi devida à discreta elevação das concentrações dos controles.

Nenhuma diferença entre os grupos foi observada para as concentrações de Hcy, serina, Cys, glutamato e glutamina independente da situação dietética analisada.

As concentrações de taurina foram semelhantes nos dois grupos apenas no período de Wo. Esse comportamento pode ser devido ao efeito prolongado da suplementação de NAC, em que os valores aumentaram e se mantiveram até o Wo, após esse período as concentrações voltaram a diminuir significativamente em relação aos controles.

Tabela 10 – Concentrações plasmáticas de jejum dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos saudáveis e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas.

<i>variável</i>	<i>Dieta</i>	<i>Controles</i>	<i>Pacientes</i>	<i>valor de p</i>
Met	DH	30,8 (8,8)*	20,0 (6,6)	0,003
	NAC	30,3 (9,6)	24,7 (7,4)	0,062
	GLN	30,3 (9,6)	25,5 (11,4)	0,073
	WO	31,9 (8,6)	24,3 (7,7)	0,011
Hcy	DH	13,9 (5,5)	9,8 (1,6)	0,080
	NAC	13,7 (2,5)	12,4 (3,0)	0,259
	GLN	11,3 (2,7)	10,2 (1,3)	0,1796
	WO	13,8 (5,3)	9,8 (1,5)	0,061
Ser	DH	108,2 (7,8)	86,9 (20,1)	0,0037
	NAC	110,4 (12,4)	61,1 (17,2)	<0,0001
	GLN	111,7 (14,1)	60,6 (16,8)	<0,0001
	WO	112,6 (10,7)	63,8 (19,3)	<0,00001
Cys	DH	413,2 (174,7)	157,9 (10,4)	<0,0001
	NAC	533,6 (53,9)	250,8 (31,6)	<0,00001
	GLN	419,8 (177,1)	174,9 (26,4)	<0,0001
	WO	408,8 (180,2)	168,9 (13,4)	<0,0001
Tau	DH	63,2 (3,9)	48,1 (3,7)	<0,00001
	NAC	68,8 (9,6)	57,2 (4,9)	0,002
	GLN	63,2 (3,9)	57,2 (5,6)	0,0012
	WO	65,4 (10,5)	66,4 (10,4)	0,7923
Glu	DH	94,0 (18,5)	56,4 (11,3)	<0,00001
	NAC	133,4m (27,2)	63,9 (14,1)	<0,00001
	GLN	143,8 (29,4)	64,1 (13,9)	<0,00001
	WO	112,6 (23,0)	63,6 (14,7)	<0,00001
Gly	DH	485,1 (68,5)	371,3 (20,2)	<0,0001
	NAC	481,2 (76,1)	346,6 (63,1)	<0,0001
	GLN	480,4 (75,9)	471,6 (60,3)	0,697
	WO	483,0 (72,9)	329,1 (75,0)	<0,0001
Gln	DH	476,4 (83,9)	284,92 (59,3)	<0,0001
	NAC	564,9 (85,3)	340,47 (56,9)	<0,00001
	GLN	565,1 (85,4)	340,81 (57,0)	<0,0001
	WO	476,9 (100,1)	286,96 (63,9)	<0,0001

Por outro lado, os valores de glicina foram equivalentes entre os grupos somente após a suplementação de Gln, sugerindo que o aumento da oferta deste aminoácido diminuiria a quantidade de glicina necessária para a exceção de amônia, conseqüentemente aumentando suas concentrações no sangue.

Os dados de equilíbrio redox de controles e pacientes podem ser observados na Tabela 11.

Tabela 11 – Concentrações plasmáticas de GSH em jejum e equilíbrio redox de indivíduos sadios e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas.

VARIÁVEL	DIETA	CONTROLES	PACIENTES	VALOR DE P
GSH	DH	9,2 (2,1)	4,9 (0,7)	0,0001
	NAC	8,5 (0,9)	9,2 (0,9)	0,0347
	GLN	8,3 (0,8)	8,4 (0,4)	0,7560
	WO	8,7 (1,4)	5,8 (0,7)	<0,00001
GSSG	DH	0,77 (0,86)	1,44 (0,40)	<0,0001
	NAC	0,58 (0,31)	1,76 (0,47)	<0,00001
	GLN	0,48 (0,23)	1,81 (0,17)	<0,00001
	WO	0,44 (0,26)	1,64 (0,14)	<0,00001
GSSG/GSH	DH	0.077 (0.068)	0.29 (0.061)	<0,001
	NAC	0.069 (0.036)	0.19 (0.04)	<0,001
	GLN	0.059 (0.03)	0.216 (0.02)	<0,001
	WO	0.054 (0.036)	0.28 (0.02)	<0,001

No período de DH, os pacientes apresentavam 46,7% da concentração da GSH total dos controles. Essa diferença desapareceu e as concentrações se elevaram em 8,2% nos pacientes durante a suplementação com NAC. No Wo, as concentrações voltaram a cair, porém num patamar inferior ao inicial (33,3%). Quando foram suplementados com Gln, as concentrações entre os grupos se igualaram. Assim, os resultados mostram o efeito benéfico tanto da suplementação de CYS quanto de Gln, porém a CYS foi mais efetiva não só em igualar valores entre grupos (como na suplementação de Gln), mas superá-los de maneira significativa nos pacientes quando comparados aos controles.

Os pacientes apresentavam 87% de aumento de GSSG quando comparados aos controles na DH. Essa diferença triplicou quando houve a suplementação de NAC, porém é razoável concluir que ela não foi tão expressiva, uma vez que os pacientes partiram de 4,9 $\mu\text{mol/L}$ para 9,2 $\mu\text{mol/L}$ de GSH (aumento de 88% em relação à situação basal) e de 1,44 $\mu\text{mol/L}$ para 1,76 $\mu\text{mol/L}$ de GSSG (aumento de 22% em relação à DH).

Nos períodos seguintes, essa diferença aumentou para cerca de 4 vezes tanto em Gln quanto no Wo, refletindo a incapacidade dos pacientes em diminuir o estado de oxidação, apesar do aumento na síntese de GSH.

A relação GSSG/GSH foi estatisticamente superior nos pacientes em todos os períodos dietéticos, com a NAC produzindo a menor (2,7 vezes) e o Wo a maior (5,2 vezes) diferença observada em relação aos controles.

Apesar dos resultados positivos para os pacientes em relação à GSH total, o mesmo não foi observado para a fração oxidada ou para a relação

oxidada/total que independente da situação dietética se manteve significativamente acima dos valores observados no grupo controle.

Desta maneira, esses resultados mostraram a melhora na síntese de GSH quando os pacientes são suplementados com CYS ou Gln, mas não houve melhora na capacidade de manter a GSH no seu estado reduzido, sugerindo deficiência no sistema GSH redutase, dependente de vitamina B2.

Quando as diferentes situações dietéticas foram comparadas entre si, pode-se observar um discreto efeito da suplementação sobre as concentrações basais de aminoácidos no grupo de indivíduos saudáveis. (Tabela 12).

Embora houvesse diferença estatística entre as concentrações de Cys para as situações dietéticas estudadas, ela não foi suficiente para demonstrar contrastes e, portanto, de modo geral, a Cys não variou estatisticamente, mas houve aumento expressivo de 62,9% em relação à DH, demonstrando a ingestão do suplemento no grupo estudado. A mesma situação foi observada para as concentrações de taurina, entretanto, em proporções bem menores, com aumento discreto de apenas 8,6% na suplementação com NAC.

Com relação à glutamina e glutamato, houve diferença entre as dietas, com contraste entre suplementados e não suplementados, ou seja, as concentrações de glutamina e glutamato variaram independente do tipo de suplemento utilizado (NAC ou Gln). Mas, apesar da semelhança entre as respostas aos suplementos, notou-se elevação de 806% para glutamato e 12,2% para glutamina durante a suplementação de Gln. O fato das concentrações de glutamato e glutamina terem aumentado sob a oferta de

NAC, sugere efeito poupador deste suplemento, particularmente sobre a glutamina, cujas concentrações se elevaram proporcionalmente em relação ao glutamato.

Além dos quatro aminoácidos citados (Cys, taurina, glutamato e glutamina), nenhum outro respondeu às suplementações utilizadas (NAC ou Gln). Também não foi observado efeito da suplementação sobre as concentrações de GSH ou mesmo sobre o equilíbrio redox dos indivíduos sadios, provavelmente devido ao grupo já apresentar concentrações normais desse antioxidante e também por não demonstrarem sinais de carência de aminoácidos sulfurados.

No grupo de pacientes HIV+ as respostas aos suplementos foi visível e proporcionalmente maior em relação ao grupo controle. As concentrações dos aminoácidos de acordo com a dieta utilizada estão distribuídas na Tabela 13.

No caso da metionina, os maiores valores foram observados após suplementação com NAC, mas não houve diferença entre os suplementos utilizados.

O mesmo comportamento foi observado para Hcy, mas, neste caso, houve destaque para a suplementação de NAC, em que as concentrações de Hcy foram significativamente aumentadas, entretanto, permaneceram dentro do limite de normalidade.

Tabela 12 – Concentrações plasmáticas de jejum dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos sadios nas diferentes situações dietéticas.

VARIÁVEL	DH	NAC	GLN	WO	VALOR DE P
Met	26,8 (24,1 - 38,7) ^A	26,3 (22,8 - 39,6) ^A	26,6 (22,8 - 39,6) ^A	28,9 (23,7 - 41,6) ^A	0,045
His	11,2 (9,9 - 19,5) ^A	14,4 (11,7 - 15,5) ^A	11,4 (9,1 - 12,8) ^A	11,0 (10,1 - 19,5) ^A	0,0954
Ser	106 (102 - 115) ^A	110 (100 - 121) ^A	110 (100 - 124) ^A	112 (108 - 116) ^A	0,139
Cys	317 (269 - 593) ^A	533 (500 - 560) ^A	330 (270 - 586) ^A	319 (261 - 586) ^A	0,048
Tau	62,3 (61,3 - 66,1) ^A	71,3 (61,1 - 77,3) ^A	62,3 (61,3 - 66,1) ^A	66,3 (60,2 - 71,0) ^A	0,025
c _{1u}	89,6 (81,0 - 108,5) ^A	128,0 (114 - 154) ^B	139,0 (123 - 163) ^B	107,0 (97 - 132) ^{AB}	< 0,0001
c _{1y}	504 (493 - 515) ^A	501 (461 - 510) ^A	500 (461 - 510) ^A	493 (464 - 532) ^A	0,985
c _{1w}	439 (429 - 537) ^A	533 (510 - 622) ^B	598 (582 - 703) ^B	451 (397 - 546) ^A	< 0,001
c _{2H}	8,6 (7,9 - 10,0) ^A	8,3 (8,0 - 9,0) ^A	8,3 (7,9 - 8,8) ^A	8,3 (7,6 - 9,8) ^A	0,798
c _{2SSG}	0,59 (0,24 - 0,78) ^A	0,54 (0,29 - 0,75) ^A	0,46 (0,29 - 0,64) ^A	0,43 (0,20 - 0,68) ^A	0,674
c _{2SSG} /c _{2SH}	0,077 (0,068) ^A	0,069 (0,039) ^A	0,059 (0,031) ^A	0,054 (0,036) ^A	0,391

Letras diferentes: p < 0,05

Tabela 13 - Concentrações plasmáticas de jejum dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas.

VARIÁVEL	DH	NAC	GLN	WD	VALOR DE P
Met	16,7 (15,1 - 26,6) ^A	21,3 (19,4 - 31,8) ^B	19,0 (15,8 - 37,3) ^{AB}	20,1 (18,7 - 31,9) ^B	0,004
Ileu	9,8 (1,6) ^A	12,4 (3,0) ^B	10,2 (1,3) ^A	9,8 (1,5) ^A	< 0,0001
Ser	88,0 (78,6 - 102,8) ^A	60,3 (54,7 - 65,1) ^B	56,7 (51,4 - 62,5) ^B	64,0 (55,5 - 67,6) ^{AB}	0,006
Cys	157 (151 - 166) ^A	249 (225 - 277) ^B	174 (155 - 187) ^A	171 (156 - 178) ^A	< 0,0001
Leu	48,4 (45,9 - 51,0) ^A	57,2 (54,8 - 61,1) ^B	58,2 (52,4 - 61,5) ^B	69,2 (56,4 - 73,2) ^B	< 0,0001
Ala	56,3 (11,3) ^A	63,9 (14,1) ^A	64,1 (13,9) ^A	63,6 (14,7) ^A	0,439
Gly	371 (363 - 378) ^A	371 (359 - 376) ^A	494 (457 - 510) ^B	357 (292 - 384) ^A	< 0,0001
Gln	258 (244 - 337) ^A	315 (300 - 386) ^{AB}	366 (347 - 458) ^B	272 (234 - 325) ^A	< 0,001
GSH	4,9 (0,66) ^A	9,2 (0,88) ^B	8,4 (0,41) ^D	5,97 (0,71) ^C	< 0,0001
GSSG	1,24 (1,1 - 1,87) ^A	1,68 (1,5 - 2,0) ^A	1,89 (1,64 - 1,94) ^A	1,69 (1,51 - 1,74) ^A	0,004
GSSG/GSH	0,27 (0,24 - 0,34) ^A	0,196 (0,16 - 0,22) ^B	0,21 (0,199 - 0,23) ^B	0,28 (0,27 - 0,30) ^A	< 0,0001

Letras diferentes: $p < 0,05$

As menores concentrações de serina foram alcançadas após suplementação com Gln, mas, de modo geral, houve diminuição significativa das concentrações de serina independente da suplementação utilizada, sem retorno aos valores basais (DH) durante o período de Wo.

As concentrações plasmáticas de Cys aumentaram apenas frente à suplementação com NAC, mas os valores foram similares àqueles encontrados em indivíduos saudáveis.

Houve efeito tanto da suplementação de NAC quanto de Gln sobre as concentrações plasmáticas de taurina, mas sem diferença entre os suplementos utilizados. Durante o Wo, as concentrações se elevaram além daquelas observadas durante as suplementações, sugerindo efeito “prolongado” da suplementação ou período insuficiente para que os valores de taurina retornassem ao basal.

As concentrações de glicina elevaram-se significativamente após suplementação com Gln, mantendo-se em condições similares nas outras situações dietéticas.

A glutamina plasmática aumentou significativamente apenas após suplementação de Gln, mas não houve diferença significativa da suplementação de NAC.

A GSH total elevou-se significativamente após todas as intervenções dietéticas, mas os valores mais altos foram observados após a suplementação com NAC, seguidos pela Gln. Durante o período de Wo os valores continuaram significativamente aumentados em relação à situação basal (DH).

A fração oxidada da GSH não se alterou durante todo o estudo. Entretanto, quando se avaliou a relação oxidada/total (GSSG/GSH), observou-

se melhora desse equilíbrio redox frente à suplementação de NAC, mas com diferença estatística apenas para as situações de DH e Wo.

4.4. Efeito da sobrecarga de metionina após suplementação

A Tabela 12 mostra as concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos sadios submetidos à sobrecarga de metionina na situação de suplementação com N-acetilcisteína.

Quando comparada à DH, a suplementação de NAC alterou a resposta frente à sobrecarga de metionina apenas para Cys, Gly e Gln. A suplementação de Gln alterou a Gly e Gln e, durante o Wo, apenas a Gly permaneceu elevada (Tabelas 14 a 16).

Tabela 14 - Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos sadios submetidos à sobrecarga de metionina na situação de suplementação com N-acetilcisteína.

VARIÁVEL	JEJUM	2H	4H
Met	26,3 (22,8 - 39,6) ^A	473 (420 - 695) ^B	558 (497 - 792) ^B
Hcy	14,4 (11,7 - 15,5) ^A	37,4 (33,0 - 41,8) ^B	46,4 (34,0 - 52,6) ^B
Ser	109,7 (100 - 120) ^A	98,5 (89,9 - 100) ^B	107 (99,4 - 117,6) ^A
Cys	533,6 (53,9) ^A	463,9 (95,6) ^B	425,3 (87,8) ^B
Tau	71,3 (61,1 - 77,3) ^A	108 (89,7 - 111,2) ^B	215,2 (207 - 229) ^C
Glu	133,4 (27,2 - 6,1) ^A	135,2 (28,7 - 6,4) ^A	128,6 (22,8 - 5,1) ^A
Gly	501 (461 - 510) ^A	492 (402 - 501) ^A	485 (440 - 508) ^A
Gln	564 (85) ^A	609 (91) ^A	576 (101) ^A
GSH	8,5 (0,93) ^A	8,6 (1,2) ^A	8,9 (1,5) ^A
GSSG	0,58 (0,31) ^A	0,53 (0,29) ^A	0,68 (0,34) ^A
GSSG/GSH	0,07 (0,039) ^A	0,061 (0,03) ^A	0,077 (0,03) ^A

Letras diferentes: $p < 0,05$

Tabela 15 - Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos sadios submetidos à sobrecarga de metionina na situação de *washout*.

VARIÁVEL	JEJUM	2H	4H
Met	28,9 (23,7 - 41,6) ^A	528 (452 - 806) ^B	578 (506 - 803) ^B
Hcy	11,0 (10,1 - 19,5) ^A	28,1 (22,2 - 40,9) ^B	34,8 (26,5 - 48,7) ^B
Ser	112,6 (10,6) ^A	101,5 (8,5) ^B	112,8 (8,0) ^A
Cys	318 (262 - 586) ^A	286 (255 - 544) ^A	293 (229 - 468) ^A
Tau	66,3 (60 - 71) ^A	116,3 (91 - 120) ^B	232,4 (219 - 247) ^C
Glu	112,6 (23,0) ^A	114,5 (24,9) ^A	106,1 (18,9) ^A
Gly	493 (464 - 532) ^A	462 (436 - 502) ^A	477 (447 - 523) ^A
Gln	477,0 (100,0) ^A	597,6 (141,9) ^B	599,1 (147,4) ^B
GSH	8,3 (7,6 - 9,8) ^A	8,5 (7,6 - 9,3) ^A	8,5 (7,8 - 8,8) ^A
GSSG	0,44 (0,26) ^A	0,49 (0,30) ^A	0,63 (0,60) ^A
GSSG/GSH	0,054 (0,036) ^A	0,057 (0,036) ^A	0,075 (0,072) ^A

Letras diferentes: $p < 0,05$

Tabela 16 - Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos sadios submetidos à sobrecarga de metionina na situação de suplementação com L-glutamina.

VARIÁVEL	JEJUM	2H	4H
Met	26,6 (22,8 - 39,6) ^A	523 (433 - 695) ^B	559 (497 - 792) ^B
HoY	11,4 (9,1 - 12,8) ^A	25,0 (21,0 - 29,7) ^B	31,6 (26,1 - 42,2) ^B
Ser	111,7 (14,1) ^A	97,2 (8,6) ^B	107,9 (11,6) ^A
Cys	329 (270 - 586) ^A	487 (391 - 546) ^A	454 (366 - 487) ^A
Tau	62,3 (61,3 - 66,1) ^A	95,3 (90,2 - 100) ^B	195,0 (184 - 199) ^C
Glu	143,8 (29,4) ^A	1445,0 (29,6) ^A	144,1 (26,5) ^A
Gly	500 (461 - 510) ^A	485 (402 - 501) ^A	484 (440 - 508) ^A
Gln	565 (85,4) ^A	609 (91,7) ^A	577 (101,4) ^A
GSH	8,32 (0,81) ^A	8,39 (0,96) ^A	8,49 (1,19) ^A
GSSG	0,48 (0,23) ^A	0,56 (0,25) ^A	0,47 (0,27) ^A
GSSG/GSH	0,059 (0,031) ^A	0,068 (0,033) ^A	0,055 (0,031) ^A

Letras diferentes: $p < 0,05$

Para a Cys houve queda significativa e prolongada até 4 horas após sobrecarga, mas os valores basais eram significativamente maiores do que na DH e, desta maneira, mesmo com a queda, os valores aumentados ainda foram preservados. Todavia, a suplementação de Gln, com reposta semelhante da Cys frente à sobrecarga de metionina na DH conseguiu preservar as concentrações de Cys durante a sobrecarga de metionina quando comparada à NAC.

Ao contrário do aumento observado durante a DH, as concentrações de Gln foram preservadas frente à sobrecarga de metionina. Independentemente da suplementação utilizada (NAC ou Gln). A diminuição de Gly após 4 horas de sobrecarga observada na DH, não foi mostrada em nenhuma situação de suplementação dietética e, mesmo no Wo, as concentrações foram mantidas frente à sobrecarga de metionina.

Desta maneira, nos indivíduos saudáveis, a Cys foi o aminoácido mais responsivo à sobrecarga e às suplementações.

No grupo de pacientes as alterações dos aminoácidos frente à sobrecarga de metionina foram mais diversificadas em relação à DH, quando comparados aos controles. Os resultados encontram-se nas Tabelas 17 a 19.

Após suplementação com NAC, a sobrecarga de metionina não alterou as concentrações de Ser, o contrário do que se observou na DH, em que houve diminuição significativa de Ser durante as 4h de sobrecarga de metionina.

Tabela 17 - Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos infectados pelo HIV submetidos à sobrecarga de metionina na situação de suplementação com N-acetilcisteína.

VARIÁVEL	JEJUNA	2H	4H
Met	21,3 (19,3 - 31,8) ^A	385 (312 - 496) ^B	559 (497 - 750) ^B
Hom	12,9 (10,4 - 13,6) ^A	19,2 (17,3 - 24,6) ^B	26,9 (21,2 - 36,3) ^B
Ser	60,3 (54,7 - 65,1) ^A	59,4 (45,0 - 65,8) ^A	56,8 (43,0 - 60,3) ^A
Cys	250,8 (31,6) ^A	262,8 (27,7) ^A	303,4 (39,2) ^B
Tau	57,2 (54,8 - 61,1) ^A	134 (115 - 143) ^B	210 (200 - 214) ^C
Glu	65,1 (55,3 - 72,8) ^A	68,5 (56,2 - 73,1) ^A	66,0 (55,7 - 71,2) ^A
Gly	371 (359 - 376) ^A	365 (353 - 371) ^A	359 (349 - 370) ^A
Gln	315 (300 - 386) ^A	359 (309 - 401) ^A	331 (310 - 410) ^A
GSH	9,2 (0,87) ^A	10,6 (0,58) ^B	9,68(0,57) ^A
GSSG	1,76 (0,47) ^A	1,88 (0,41) ^A	1,91 (0,38) ^A
GSSG/GSH	0,19 (0,04) ^A	0,18 (0,038) ^A	0,197 (0,038) ^A

Letras diferentes: $p < 0,05$

Tabela 18 – Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos infectados pelo HIV submetidos à sobrecarga de metionina na situação de *washout*.

VARIÁVEL	JEJUM	2H	4H
Met	20,0 (18,7 - 31,9) ^A	385 (291 - 516) ^B	455 (431 - 651) ^B
HoY	10,4 (8,76 - 10,9) ^A	13,6 (11,5 - 14,2) ^{AB}	17,9 (15,0 - 18,7) ^B
Ser	64,0 (55,5 - 67,6) ^A	56,9 (45,9 - 59,7) ^A	55,9 (50,2 - 57,7) ^A
Cys	169,0 (13,4) ^A	213,0 (17,8) ^B	238,8 (22,9) ^C
Tau	69,2 (56,4 - 73,2) ^A	140 (131 - 151) ^B	229 (206 - 241) ^C
Glu	63,6 (14,7) ^A	65,7 (14,9) ^A	53,8 (11,6) ^A
Gly	329 (75,0) ^A	351,0 (37,5) ^A	358,0 (33,7) ^A
Gln	286,9 (63,9) ^A	371,8 (104,6) ^B	393,2 (78,0) ^B
GSH	5,8 (0,71) ^A	6,0 (0,79) ^A	5,9 (0,42) ^A
GSSG	1,69 (1,51 - 1,74) ^A	1,82 (1,70 - 1,86) ^{AB}	1,87 (1,77 - 1,93) ^B
GSSG/GSH	0,28 (0,27 - 0,30) ^A	0,3 (0,27 - 0,31) ^{AB}	0,31 (0,31 - 0,32) ^B

Letras diferentes: $p < 0,05$

Tabela 19 - Concentrações plasmáticas dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos infectados pelo HIV submetidos à sobrecarga de metionina na situação de suplementação com L-glutamina.

VARIÁVEL	JEJUM	2H	4H
Met	19,0 (15,8 - 37,3) ^A	366 (267 - 445) ^B	424 (390 - 584) ^B
Hcy	10,4 (9,5 - 10,9) ^A	17,3 (16,3 - 19,3) ^B	24,2 (19,9 - 26,7) ^B
Ser	56,7 (51,4 - 62,5) ^A	53,5 (50,7 - 59,7) ^A	54,9 (50,1 - 58,8) ^A
Cys	175 (26,4) ^A	236 (35,6) ^B	331 (49,1) ^C
Tau	57,2 (5,57) ^A	119,1 (12,6) ^B	195,4 (13,5) ^C
Glu	65,1 (55,3 - 72,8) ^A	68,5 (56,0 - 73,1) ^A	66,0 (55,7 - 71,2) ^A
Gly	471,6 (60,3) ^A	459,1 (31,2) ^A	482 (24,2) ^A
Gln	315 (300 - 386) ^A	360 (309 - 401) ^A	336 (310 - 410) ^A
G-SH	8,40 (0,41) ^A	7,68 (0,62) ^B	8,07 (0,40) ^{AB}
G-SSG	1,81 (0,18) ^A	2,01 (0,10) ^B	1,78 (0,09) ^A
G-SSG/G-SH	0,21 (0,20 - 0,23) ^A	0,27 (0,26 - 0,27) ^B	0,22 (0,22 - 0,23) ^A

Letras diferentes: $p < 0,05$

As concentrações de Cys aumentaram significativamente após 4 horas (na DH o aumento ocorreu já em 2 horas), mas os valores observados no jejum já eram superiores (2 vezes) aos patamares observados na DH.

Com relação à suplementação de Gln, as concentrações plasmáticas foram mantidas (na DH aumentaram significativamente), entretanto as concentrações plasmáticas de Gln, no jejum, eram semelhantes às aquelas da pós-sobrecarga na DH.

A Ser e Gln comportaram-se de modo semelhante à suplementação com NAC. Para a Cys, as concentrações aumentaram já em 2 horas (como na DH), mas as concentrações no jejum eram semelhantes às aquelas de DH e inferiores à suplementação com NAC e aos valores encontrados em indivíduos saudáveis.

A GSH plasmática diminuiu significativamente após 2 h de sobrecarga, acompanhados pelo aumento da fração oxidada (GSSG). Consequentemente, o equilíbrio redox dado pela relação GSSG/GSH elevou-se, sugerindo deficiência do sistema redutase para a regeneração da GSH.

No Wo, houve efeito retardado da sobrecarga sobre as concentrações de Hcy, que aumentaram significativamente somente após 4 horas. A Ser permaneceu inalterada durante a sobrecarga que, na DH diminuiu significativamente. As concentrações de Cys aumentaram significativamente já em 2 horas e, paralelamente, as concentrações plasmáticas estavam próximas aos patamares pré-suplementação.

Assim, pode-se considerar que nos controles houve efeito da sobrecarga de metionina sobre as concentrações de Cys, Gly e Gln. Já nos

pacientes não houve efeito sobre a Gly e, além da Cys e Gln, também houve alteração de Ser em todas as situações dietéticas estudadas (NAC, Gln e Wo).

Com relação à GSH, houve preservação dos valores, apesar do aumento da oxidação com elevação do equilíbrio redox em 4 horas de sobrecarga.

As respostas dos aminoácidos frente à sobrecarga de metionina, dadas pelas áreas abaixo da curva nos indivíduos sadios e infectados pelo HIV em diferentes situações dietéticas estão dispostas nas Tabelas 20 a 22.

Para os aminoácidos sulfurados: Met, Hcy, Cys e Tau, em geral, os pacientes apresentaram menor resposta à sobrecarga independentemente da condição dietética analisada. Apenas no caso da Tau, os pacientes apresentaram maior resposta após suplementação com NAC e glutamina e, inclusive no período de Wo.

Adicionalmente, a NAC foi o suplemento mais efetivo para aproximar a resposta dos aminoácidos frente à sobrecarga de metionina entre controles e pacientes.

A resposta da serina à sobrecarga não foi alterada pela suplementação de NAC ou de Gln.

Apesar da menor diferença entre pacientes e controles na resposta do glutamato frente à suplementação de NAC, nota-se que a mesma ocorreu mais pela diminuição da resposta dos controles do que pelo aumento dos valores nos pacientes, que praticamente foram mantidos durante todo o estudo.

No caso da glicina, a suplementação de glutamina é que foi mais eficiente em aproximar a resposta dos dois grupos.

Tabela 20 – Valor médio de área abaixo da curva dos aminoácidos sulfurados em indivíduos saudáveis e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas.

Variável	DIE TA	Controles	Pacientes	Valor de p
Met	DH	1811 (516)	1459 (430)	0,043
	NAC	1711 (483)	1441 (390)	0,111
	GLN	1733 (469)	1257 (325)	0,004
	WO	1891 (543)	1347 (409)	0,008
Hcy	DH	118 (51,4)	60,88 (6,15)	< 0,0001
	NAC	132 (26,6)	81,47 (18,0)	< 0,0001
	GLN	105 (39,6)	68,0 (8,71)	< 0,0001
	WO	117 (47,1)	52,17 (7,95)	< 0,0001
Cys	DH	1537 (643)	620 (30,8)	< 0,0001
	NAC	1887 (272)	1080 (113)	< 0,0001
	GLN	1780 (182)	978 (143)	< 0,0001
	WO	1538 (636)	833 (50,3)	< 0,0001
Tau	DH	443 (28,4)	379 (51,6)	0,001
	NAC	486 (51,5)	523 (40,5)	0,042
	GLN	447 (31,6)	491 (36,2)	0,001
	WO	506 (67,7)	570 (46,7)	0,006

Tabela 21- Valor médio de área abaixo da curva de aminoácidos relacionados ao metabolismo dos sulfurados em indivíduos sadios e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas estudadas.

Varíável	Dieta	Controles	Doentes	Valor de p
Ser	DH	411 (30,8)	275,19 (54,9)	< 0,0001
	NAC	413 (35,5)	227,67 (50,2)	< 0,0001
	GLN	414 (35,0)	226,7 (28,7)	< 0,0001
	WO	428 (30,0)	224,0 (52,6)	< 0,0001
Gln	DH	375 (71,3)	224,45 (45,4)	< 0,0001
	NAC	532 (105)	256,44 (53,6)	< 0,0001
	GLN	375 (164)	256,46 (53,6)	0,061
	WO	448 (89,7)	248,76 (53,8)	< 0,0001
Gly	DH	1886 (273)	1352,21 (183)	< 0,0001
	NAC	1853 (287)	1414,59 (67,0)	< 0,0001
	GLN	1848 (285)	1871,79 (107)	0,392
	WO	1859 (285)	1388,57 (101)	< 0,0001
Gln.	DH	2244 (361)	1385,82 (258)	< 0,0001
	NAC	2358 (356)	1431,92 (236)	< 0,0001
	GLN	2360 (356)	1433,58 (235)	< 0,0001
	WO	2271 (439)	1423,75 (308)	< 0,0001

Tabela 22 – Valor médio de área abaixo da curva da GSH em jejum e equilíbrio redox de indivíduos saudáveis e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas estudadas.

variável	Dieta	Controles	Pacientes	valor de p
GSH	DH	35,8 (6,0)	20,4 (1,50)	< 0,0001
	NAC	34,5 (4,8)	40,1 (2,12)	< 0,0001
	GLN	33,6 (3,7)	31,8 (1,68)	0,161
	WO	34,7 (5,3)	23,7 (2,37)	< 0,0001
cPSSG	DH	3,21 (2,92)	6,06 (1,31)	< 0,0001
	NAC	2,33 (0,67)	7,42 (1,30)	< 0,0001
	GLN	2,08 (0,59)	7,61 (0,41)	< 0,0001
	WO	2,04 (1,11)	7,06 (0,47)	< 0,0001
cPSSG/cPSSH	DH	0,34 (0,23)	1,19 (0,20)	< 0,0001
	NAC	0,28 (0,2 - 0,30)	0,77 (0,7 - 0,82)	< 0,0001
	GLN	0,25 (0,08 - 0,2)	0,96 (0,047)	< 0,0001
	WO	0,25 (0,12 - 0,3)	1,19 (1,15 - 1,2)	< 0,0001

De modo semelhante à Ser, a Gln dos pacientes também respondeu menos (50%) do que os controles e não houve efeito da suplementação na melhora dessa resposta.

Quanto à GSH, houve, mais uma vez, destaque para a suplementação de NAC na melhora da resposta à sobrecarga nos pacientes, situação semelhante àquela observada para Tau, sugerindo possível balanço entre a Cys dioxigenase e GSH sintetase para a síntese de taurina e GSH, respectivamente.

A GSH oxidada esteve elevada durante todo o estudo e, apesar das melhoras observadas para a GSH nos pacientes, o mesmo não ocorreu no caso da forma oxidada, sugerindo deficiência do sistema redutase dependente de vitamina B2.

Os valores do delta da média da concentração dos aminoácidos sulfurados, aminoácidos relacionados e equilíbrio redox de indivíduos sadios e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas encontram-se nas Tabelas 23, 24 e 25, respectivamente.

A avaliação da sobrecarga de metionina pelo delta da média variou bastante entre os grupos e entre as variáveis de cada grupo.

Para a Met, os pacientes apresentaram valores significativamente menores do que os controles apenas no Wo e NAC. Já as concentrações de Hcy foram significativamente menores em todas as situações dietéticas analisadas.

Tabela 23 – Valor do delta da média de concentração pós-sobrecarga dos aminoácidos sulfurados em indivíduos saudáveis e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas.

VARIÁVEL	DIETA	CONTROLES	PACIENTES	VALOR DE P
Met	DH	493 (448 - 732)	441 (378 - 631)	0,090
	NAC	491 (419 - 705)	442 (386 - 600)	0,167
	GLN	501 (430 - 705)	367 (326 - 478)	0,005
	WO	519 (449 - 750)	403 (325 - 545)	0,010
Hcy	DH	18,5 (14 - 24,3)	7,1 (5,0 - 10,3)	<0,001
	NAC	26,8 (7,2)	12,0 (6,2)	<0,001
	GLN	17,1 (14 - 21,0)	11,3 (7,9 - 12,2)	<0,001
	WO	18,7 (14 - 26,6)	5,34 (4,5 - 5,6)	<0,001
Cys	DH	-32 (-68 - -9,6)	-0,3 (-10 - 8,1)	<0,001
	NAC	-66 (-150 - -32)	42,4 (15,1 - 55,2)	<0,001
	GLN	111 (-175 - 204)	107 (95 - 123)	0,953
	WO	-23 (-68,4 - 5,9)	55 (41,3 - 68,9)	<0,001
Tau	DH	79 (76,5 - 83,1)	75,7 (63 - 87,3)	0,381
	NAC	88,4 (15,4)	110 (14,5)	< 0,001
	GLN	80,4 (6,6)	100 (9,4)	< 0,001
	WO	100 (21,6)	115 (12,2)	0,043

Tabela 24 Valor do delta da média de concentração pós-sobrecarga dos aminoácidos relacionados ao metabolismo dos sulfurados em indivíduos saudáveis e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas estudadas.

Variável	DIETA	Controles	Pacientes	Valor de p
Ser	DH	-5,61 (-6,1 - -5,4)	-18,3 (-33,4 - -13,0)	< 0,001
	NAC	-6,83 (-14,5 - -2,64)	-2,76 (-4,1 - -2,16)	0,206
	GLN	-7,4 (-15,2 - -2,64)	-0,71 (-7,4 3,43)	0,124
	WO	-6,6 (-7,78 - -1,69)	-6,3 (-10,6 - -5,26)	0,321
Glu	DH	-2,56 (-5,4 - -2,12)	-0,61 (-1,21 - 0,12)	0,321
	NAC	-4,1 (-8,88 - 4,6)	0,54 (-2,96 - 2,10)	0,302
	GLN	0,54 (-4,10 - 2,45)	0,54 (-3,73 - 2,10)	0,984
	WO	-2,32 (9,10)	-3,89 (6,65)	0,609
Gly	DH	-13,6 (-20,1 - -4,82)	-20,9 (-53,04 - -5,46)	0,251
	NAC	-18,9 (-42,7 - 0,23)	-5,79 (-32,3 - 4,20)	0,381
	GLN	-22,56 (31,3)	-1,15 (52,0)	0,155
	WO	-21,8 (42,4)	25,2 (84,0)	0,043
Gln	DH	125 (60,1 - 174)	93,9 (57,4 - 104)	0,206
	NAC	27,6 (35,8)	21,96 (20,0)	0,623
	GLN	27,8 (35,7)	22,2 (19,8)	0,621
	WO	121 (114)	95,5 (65,9)	0,479

Tabela 25 – Valor do delta da média de concentração pós-sobrecarga da GSH em jejum e estado redox de indivíduos saudáveis e infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas estudadas.

Variável	DIETA	Controles	Pacientes	Valor de p
GSH	DH	-0,08 (-0,69 - 0,4)	0,11 (-0,28 - 0,33)	0,533
	NAC	0,23 (0,75)	0,918 (0,817)	0,021
	GLN	0,07 (-0,44 - 0,74)	-0,6 (-0,70 - -0,4)	0,005
	WO	-0,06 (1,03)	0,167 (0,49)	0,470
GSSG	DH	0,06 (0,49)	0,09 (0,30)	0,846
	NAC	0,03 (0,36)	0,14 (0,26)	0,372
	GLN	0,07 (-0,15 - 0,21)	0,06 (-0,01 - 0,17)	0,640
	WO	0,04 (-0,04 - 0,16)	0,18 (0,15 - 0,20)	0,014
GSSG/GSH	DH	0,013 (0,05)	0,013 (0,064)	0,987
	NAC	-0,0003 (0,044)	-0,002 (0,030)	0,875
	GLN	0,002 (0,036)	0,030 (0,019)	0,040
	WO	0,01 (-0,01 - 0,02)	0,03 (0,016 - 0,03)	0,054

Para a Cys, os maiores valores foram observados frente à suplementação com NAC, seguidos pelo Wo e DH. Na suplementação de Gln não houve diferença nas concentrações de Cys dos dois grupos estudados.

A resposta da Tau foi equivalente nos dois grupos na situação de DH e, significativamente maior em NAC, Wo e Gln.

Na situação de DH o delta da concentração média de Ser após sobrecarga de metionina foi significativamente menor nos pacientes. Para o restante das situações dietéticas, os dois grupos apresentaram concentrações semelhantes de Gln, Gly ou Gln.

Com relação à GSH, os pacientes apresentaram delta da média significativamente maior em NAC e menor em Gln. Na DH e Wo, os valores encontrados foram semelhantes nos dois grupos. Apesar desses resultados, o delta do GSSG ainda continuou maior nos pacientes durante o Wo e o equilíbrio redox ficou prejudicado (significativamente maior) nos pacientes suplementados com Gln.

Na Tabela 26 estão os valores do delta da média das concentrações dos aminoácidos estudados dos indivíduos sadios nas diferentes situações dietéticas estudadas.

Tabela 26 – Valor do delta da média de concentração pós-sobrecarga dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos sadios nas diferentes situações dietéticas.

VARIÁVEL	DH	NIAC	GLN	W/O	Valor de p
Met	49,3 (44,8 - 73,2) ^A	49,1 (41,9 - 70,5) ^A	50,1 (43,0 - 70,5) ^A	51,9 (44,9 - 75,0) ^A	0,696
His	18,5 (14 - 24,3) ^{AB}	26,8 (7,2) ^A	17,1 (14 - 21,0) ^B	18,7 (14 - 26,6) ^{AB}	0,024
Ser	-5,6 (-6 - -5,4) ^A	-6,8 (-14 - -2,6) ^A	-7,4 (-15 - -2,6) ^A	-7 (-7,8 - -1,7) ^A	0,747
Cys	-32 (-68 - -10) ^{AB}	-66 (-150 - -32) ^A	111 (-175 - 204) ^B	-23 (-68,4 - 5,9) ^{AB}	0,019
Val	79,4 (76,5 - 83) ^A	88,4 (15,4) ^{BC}	80,4 (6,6) ^{AC}	100 (21,6) ^B	< 0,001
Glu	-2,56 (-5,4 - 2,1) ^A	-4,1 (-8,9 - 4,6) ^A	0,54 (-4,1 - 2,4) ^A	-2,32 (9,10) ^A	0,376
Pro	-14 (-20 - -4,8) ^A	-18,9 (-43 - 0,2) ^A	-22,56 (31,3) ^A	-21,8 (42,4) ^A	0,876
Gln	125 (60,1 - 174) ^A	27,6 (35,8) ^B	27,8 (35,7) ^B	121 (114) ^A	< 0,001
GSH	-0,1 (-0,7 - 0,4) ^A	0,23 (0,75) ^A	0,07 (-0,4 - 0,7) ^A	-0,06 (1,03) ^A	0,635
CSSG	0,06 (0,49) ^A	0,03 (0,36) ^A	0,07 (-0,1 - 0,2) ^A	0,04 (-0,0 - 0,2) ^A	0,901
CSSG/GSH	0,013 (0,05) ^A	-0,0003 (0,044) ^A	0,002 (0,036) ^A	0,01 (-0,0 - 0,02) ^A	0,772

Letras diferentes: $p < 0,05$

Quando comparados à DH, a suplementação de NAC significativamente aumentou as concentrações de Tau e diminuiu as concentrações de Gln. Esses resultados sugerem a Tau como a via principal de excreção do excesso de Cys, já a diminuição de Gln pode ser interpretada como elevação do resíduo glutamil-Cys, já que as concentrações de Cys não sofreram modificações. A oferta de Gln não alterou o padrão de resposta observado na DH.

A comparação das suplementações mostrou diferença significativa apenas para Hcy e Cys. A suplementação de NAC elevou significativamente as concentrações plasmáticas de Hcy, sugerindo aumento da sua excreção, sendo essa uma função reconhecidamente importante da NAC. A elevação de Cys durante a suplementação de Gln sugere economia deste aminoácido, entretanto, a variabilidade dos resultados individuais (de -440 a 320) dificulta a real interpretação dos dados.

As concentrações de Met, Ser, Glu, Gly, GSH e GSSG não sofreram interferência das suplementações de NAC ou Gln.

Daqueles aminoácidos que não mostraram resposta no grupo controle, apenas a Hcy manteve esse comportamento no grupo de pacientes. A Ser, que havia mantido seus valores de delta nos controles, aumentou significativamente nos pacientes, com benefício maior da suplementação de Gln, mas sem diferença estatística para NAC. As duas suplementações aumentaram significativamente os valores do delta da Ser quando comparados à DH (Tabela 27).

Tabela 27 – Valor do delta da média de concentração pós-sobrecarga dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos infectados pelo HIV nas diferentes situações dietéticas.

VARIÁVEL	DH	NAC	GLN	WC	VALOR DE P
Met	441 (378 - 631) ^A	442 (386 - 600) ^A	367 (326 - 478) ^A	403 (325 - 545) ^A	0,206
His	7,1 (5 - 10,3) ^{AB}	12,0 (6,2) ^A	11,3 (7,9 - 12,2) ^A	5,34 (4,5 - 5,6) ^B	< 0,001
Ser	-18 (-33 - -13) ^A	-3 (-4,1 - -2,2) ^B	-0,71 (-7,4 3,43) ^B	-6,3 (-11 - -5,3) ^{AB}	< 0,001
Cys	-0,26 (-10 - 8) ^A	42 (15,1 - 55,2) ^B	107 (95 - 123) ^B	55,0 (41,3 - 69) ^C	< 0,001
Ileu	75,7 (62,9 - 87) ^A	110 (14,5) ^{BC}	100 (9,4) ^C	115 (12,2) ^B	< 0,001
Ala	-0,6 (-1 - 0,1) ^A	0,5 (-2,9 - 2,1) ^A	0,54 (-3,7 - 2,1) ^A	-3,89 (6,65) ^A	0,162
Gly	-21 (-53 - -5,5) ^A	-5,8 (-32 - 4,2) ^A	-1,15 (52,0) ^A	25,2 (84,0) ^A	0,295
Gln	93,9 (57 - 104) ^A	21,96 (20,0) ^B	22,2 (19,8) ^B	95,5 (65,9) ^A	< 0,001
CysH	0,1 (-0,3 - 0,3) ^A	0,918 (0,817) ^A	-0,6 (-0,7 - -0,4) ^B	0,167 (0,49) ^A	< 0,001
CSSC	0,09 (0,30) ^A	0,14 (0,26) ^A	0,1 (-0,01 - 0,2) ^A	0,18 (0,15 - 0,2) ^A	0,477
CSSC/CysH	0,013 (0,064) ^A	-0,002 (0,030) ^A	0,030 (0,019) ^A	0,03 (0,02 - 0,03) ^A	0,122

Letras diferentes: $p < 0,05$

No caso da Tau, também houve resposta semelhante dos controles, mas ao contrário do efeito isolado da NAC em relação à DH, os dois suplementos foram efetivos no aumento do delta pós-sobrecarga no grupo de pacientes.

De modo semelhante aos controles, não houve resposta à sobrecarga dada pelo delta da média de Met, Glu, Gly e GSSG; entretanto, para a GSH, o delta foi negativo na suplementação de Gln e diferente estatisticamente das outras situações dietéticas. Apesar de se observar valores cerca de 10 vezes maiores durante a suplementação de NAC, não houve significância estatística, nem mudança do equilíbrio redox dado pela relação GSSG/GSH, que, aliás, foi mantido em todas as situações dietéticas.

Os valores da área abaixo da curva dos aminoácidos sulfurados, aminoácidos relacionados e equilíbrio redox em diferentes situações dietéticas de controles e pacientes encontram-se nas Tabelas 28 e 29, respectivamente.

A área da Hcy aumentou significativamente quando os controles foram suplementados com NAC, mas os valores diminuíram abaixo do basal (DH) após a suplementação com Gln, promovendo diferença estatística apenas entre as suplementações.

A suplementação de NAC também elevou significativamente a área do Glu, mostrando diferença não só para Gln como também para a situação pré-suplementação (DH).

Não houve diferença estatística para nenhuma outra variável estudada, nem em relação às suplementações, nem quando as respostas foram comparadas à dieta habitual.

Tabela 28 – Valor da área abaixo da curva dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos sadios nas diferentes situações dietéticas.

VARIÁVEL	DH	NAC	GLN	WD	VALOR DE P
Met	1811 (516) ^A	1711 (483) ^A	1733 (469) ^A	1891 (543) ^A	0,631
Proy	118 (51,4) ^{AB}	132 (25,6) ^A	105 (39,3) ^B	117 (47,1) ^{AB}	0,041
Ser	411 (29,8) ^A	413 (34,6) ^A	414 (35,0) ^A	428 (30,0) ^A	0,310
Cys	1537 (643) ^A	1887 (272) ^A	1779 (182) ^A	1538 (636) ^A	0,188
Val	443 (28,4) ^A	486 (50,5) ^{AB}	447 (30,6) ^B	506 (66,7) ^A	< 0,001
Ileu	375 (71,3) ^A	532 (105) ^B	375 (164) ^A	448 (88,7) ^{AB}	< 0,001
Gly	1886 (71,3) ^A	1853 (287) ^A	1848 (285) ^A	1859 (285) ^A	0,977
Ala	2244 (361) ^A	2358 (356) ^A	2360 (356) ^A	2271 (439) ^A	0,440
GSH	35,8 (6,0) ^A	34,5 (4,81) ^A	33,6 (3,66) ^A	34,7 (5,3) ^A	0,744
GSSG	3,2 (2,9) ^A	2,3 (0,67) ^A	2,08 (0,59) ^A	2,04 (1,11) ^A	0,281
GSSG/GSH	0,34 (0,23) ^A	0,27 (0,06) ^A	0,25 (0,077) ^A	0,24 (0,14) ^A	0,318

Letras diferentes: $p < 0,05$

No grupo de pacientes, as respostas às suplementações foram mais evidentes. Apenas Met, Ser, Glu e Gln não se alteraram frente à suplementação de NAC ou Gln (Tabela 29).

Ao contrário dos controles, a NAC elevou significativamente a área abaixo da curva de Hcy em relação à DH, mas não houve diferença entre os suplementos.

Para a Cys, Tau, GSH e GSSG houve efeito indiscriminado de NAC e Gln para o aumento significativo dos valores de área, quando comparados à DH. Paralelamente, a NAC produziu valores de área maiores do que a Gln (sem diferença estatística), com exceção da GSSG, o que contribuiu para que o equilíbrio redox fosse significativamente diferente apenas entre NAC e DH.

Com relação à Gly, apenas a suplementação de Gln aumentou significativamente a resposta à sobrecarga de Met dada pela área abaixo da curva.

Desta maneira, no grupo controle, o efeito das suplementações foi mínimo, em que a NAC foi efetiva apenas para o aumento isolado do Glu. No grupo de pacientes, o efeito das suplementações foram mais visíveis, mas a NAC é melhor para o aumento de Cys, Tau e GSH e com efeito mais positivo sobre o equilíbrio redox do que a Gln.

Tabela 29 – Valor da área abaixo da curva dos aminoácidos sulfurados e aminoácidos relacionados em indivíduos infectados pelo

HIV em diferentes situações dietéticas.

VARIÁVEL	DH	NAC	GLN	WD	VALOR DE P
Met	1459 (430) ^A	1441 (390) ^A	1257 (325) ^A	1347 (409) ^A	0,473
His	60,9 (6,2) ^{AC}	81,5 (18,0) ^B	68,0 (8,71) ^{BC}	52,2 (8,0) ^A	< 0,001
Ser	275 (54,9) ^A	228 (50,2) ^A	227 (28,7) ^A	224 (8,0) ^A	0,046
Cys	620 (30,8) ^A	1080 (113) ^B	978 (143) ^{BC}	833 (50,3) ^{AC}	< 0,001
Tau	379 (51,6) ^A	523 (40,5) ^{BC}	491 (36,2) ^C	570 (46,7) ^B	< 0,001
Glu	224 (45,4) ^A	256 (53,6) ^A	256 (53,6) ^A	249 (53,8) ^A	0,195
Gly	1352 (183) ^A	1415 (67,0) ^A	1872 (107) ^B	1389 (102) ^A	< 0,001
Gln	1386 (258) ^A	1432 (236) ^A	1434 (236) ^A	1424 (308) ^A	0,966
GSH	20,4 (1,5) ^A	40,1 (2,1) ^B	31,8 (1,68) ^{BC}	23,7 (2,4) ^{AC}	< 0,001
GSSG	6,1 (1,3) ^A	7,4 (1,3) ^B	7,61 (0,41) ^B	7,06 (0,47) ^{AB}	0,006
GSSG/GSH	1,19 (0,20) ^{AC}	0,74 (0,12) ^B	0,96 (0,047) ^{BC}	1,20 (0,09) ^A	< 0,001

Letras diferentes: $p < 0,05$

4.5. Proporções entre aminoácidos

4.5.1. Comportamento dos grupos na dieta habitual

Pacientes apresentaram menores concentrações plasmáticas de GSH do que os controles (5,1/8,6), dobrando a quantidade de GSSG (1,2/0,6) e quadruplicando a proporção GSSG/GSH (0,292/0,077).

A redução plasmática de GSH foi acompanhada de menores níveis dos seus aminoácidos precursores Cys (158/413), glutamato (56,4/94) e glicina (371/485).

A concentração plasmática do precursor do glutamato, a glutamina, também se encontrava diminuída (285/476), mas a proporção Gln/Glu foi semelhante entre os dois grupos (4,4 x 4,9). Os precursores da Cys, com exceção da Hcy (9,8/13,9) se encontraram reduzidos, metionina (20/30,8) e serina (86,9/108,2). Porém, contrastadamente ao ocorrido com Gln/Glu (semelhantes entre grupos), as relações com Cys estiveram reduzidas no grupo HIV+: Cys/Met (8,67/12,2), Cys/Hcy (15,7/29,4) e Cys/Ser (1,73/2,97).

A proporção de GSH com a soma dos seus três aminoácidos precursores (Gly-Glu-Cys) foi semelhante entre os dois grupos (0,91/0,94). Enquanto que a proporção GSH/Gly-Glu foi menor no grupo HIV+ (1,15/1,46). Desta forma, como o previsto, a participação de Cys na formação de GSH (GSH/Cys) esteve aumentada no grupo HIV+ (3,12/2,72). O oposto foi observado para GSH/Gly (1,33/1,73) sem variação significativa na relação GSH/Glu.

Assim, embora com menores níveis plasmáticos de GSH (a maioria na forma GSSG), o grupo HIV+ apresentou maior utilização de Cys, menor de Gly e semelhante de Glu na geração de GSH. Embora com valores inferiores aos controles, não houve limitação da geração de Glu a partir da Gln. De modo diferente, a partir de valores isolados menores, também a geração de Cys esteve menor no HIV. Isto sugere que, embora com utilização aumentada na geração de GSH, a Cys poderia contribuir ainda mais se tivesse sua formação em ritmo semelhante aos controles sadios.

A redução de Cys no HIV pode ser por deficiência primária de Met. No presente trabalho, a concentração de Hcy dos indivíduos HIV+ foi semelhante aos controles, em que 65% dos valores estiveram acima do recomendável ($< 10 \mu\text{mol/L}$). Isto poderia denotar deficiência na remetilação da Hcy a Met, o que no grupo HIV+ encontra fundamento na redução do folato plasmático. Assim, o grupo HIV+ teria todos os ingredientes pró-aterogênicos: padrão lipídico (triacilgliceróis e LDL elevados com HDL reduzido), adicionado ao agressor endotelial (glicemia acima de 110 mg/dL) e o estado pró-oxidante da infecção retroviral com Hcy elevada.

Entretanto, a menor formação de Cys parece ser mais pela menor transulfuração (Cys/Hcy e Cys/Ser) com redução acima de 40% do que pela transmetilação-remetilação, com valores semelhantes de Hcy/Met e ligeiramente menores (28,9%) de Cys/Met.

4.5.2. Comportamento dos grupos na sobrecarga aguda de metionina

Mesmo após sobrecarga aguda de Met, os valores obtidos pelo cálculo da área de GSH persistiram reduzidos (20,4/35,8) e os de GSSG maiores (60,6/3,21) do que os controles, sextuplicando a proporção GSSG/GSH (1,19/0,34). Persistiram os menores níveis dos aminoácidos geradores de GSH (Cys, Glu e Gly) e dos precursores de Glu (Gln) e Cys (Met, Ser e agora também Hcy) observados sem a sobrecarga de Met.

Houve, ainda, manutenção do padrão de variação observado no HIV para GSH/Gly-Glu-Cys (N), GSH/Gly-Glu (↓), GSH/Glu (N), GSH/Gly (↓) e GSH/Cys (↑). Adicionalmente, com preservação de Gln/Glu (N), Cys/Met (↓), Cys/Hcy (↓) e Cys/Ser (↓).

Assim, mesmo com a oferta aguda de Met não houve normalização do GSH nem dos seus precursores, especificamente, o maior dependente de Met que é a Cys. A maior oferta de Met não alterou o padrão de formação da Cys (diminuída a partir de Hcy e Ser) nem de utilização na GSH (↑) ou metabolização a Tau (↑). Conclui-se que as deficiências de Cys não são supridas pela oferta simples de Met.

4.5.3. Comportamento dos grupos na suplementação de NAC

Em relação à dieta habitual, a oferta de NAC aumentou significativamente, nos controles, as concentrações plasmáticas de Gln e Glu, mantendo-se semelhante às demais variáveis (Tabela 12). Por outro lado, nos

pacientes, apresentou elevação significativa de Met, Hcy, Cys, Tau, GSH e redução de GSSG/GSH (Tabela 13).

A oferta de NAC aproximou as concentrações de GSH dos dois grupos (9,2/8,5; $p=0,035$), reduzindo a relação GSSG/GSH (0,19/0,0069) (Tabela 11). Promoveu elevação diferenciada e significativa, no HIV, de GSH/Gly-Glu-Cys (1,44/0,71), GSH/Gly-Glu (2,30/1,31), mantendo as alterações GSH/Gly (2,65/1,69) e GSH/Cys (3,72/1,57) e semelhança de GSH/Glu.

Embora a oferta de NAC tenha elevado a concentração de todos os sulfurados, mais a glutamina e glutamato, esses valores persistiram abaixo dos controles (mesmo a Cys). Como ponto positivo adicional, a oferta de NAC reduziu os valores de Ser e Gly e de GSSG/GSH nos pacientes. Esses aminoácidos são consumidos na síntese de Cys e de GSH, respectivamente.

Houve elevação significativa da conversão glutamina-glutamato (5,3/4,1) e normalização de Cys/Ser, com manutenção da menor formação de Cys a partir de Met (46,9%), Hcy (47,6%) e maior de Tau a partir de Cys (76,9%).

A superposição de NAC com oferta aguda de Met não alterou o padrão de modificações oferecido apenas pela NAC. No entanto, dobrou a área abaixo da curva de GSH nos pacientes, resultando em valores maiores do que os controles (Tabela 22). Mesmo após certa redução da relação GSSG/GSH, a proporção oxidada ainda foi mantida maior nos pacientes pelo aumento, também, de GSSG (Tabela 22).

4.5.4. Comportamento dos grupos na suplementação de Glutamina

Em relação à dieta habitual, a suplementação de Gln promoveu, nos controles, apenas a elevação das concentrações de Gln e Glu (Tabela 12). Nos pacientes, a elevação dessas duas variáveis não foi significativa, mas sim as elevações de Gly, Tau e GSH e redução de Ser (Tabela 10) e da relação GSSG/GSH (Tabela 13). As elevações de Cys e GSSG não foram significativas (Tabela 10).

Com essas alterações, os grupos passaram a ter concentrações semelhantes de Met, Gly e GSH e continuaram com valores menores de Ser, Cys, Tau, Glu e Gln e maiores de GSSG e GSSG/GSH (Tabelas 10 e 11). A normalização de GSH foi acompanhada da normalização de Gly. A normalização de Met foi acompanhada da normalização de Hcy, mas não de Cys ($\downarrow$ transulfuração com $\downarrow$ Ser), mas a maior participação de Cys na GSH foi acompanhada de Cys/Ser normal e de Tau/Cys aumentada (detoxificação?).

Assim, a suplementação de Gln normalizou, nos pacientes, a concentração de GSH sem influenciar (reduzir) a relação GSSG/GSH (Tabela 11). Aumentou a relação GSH/Gly-Glu-Cys (3,39/1,64) e também GSH/Gly-Glu (1,59/1,29). Elevou a participação individual dos aminoácidos na GSH, significativamente, GSH/Glu (2,43/0,63) e GSH/Cys (4,88/2,4) e em menor proporção GSH/Gly (4,8%, $p>0,05$).

Houve aumento na conversão Gln/Glu (5,3/3,9) e Tau/Cys (0,33/0,18) e redução das relações Cys/Met (8,12/13,2) e Cys/Hcy (16,8/35,1), sem alteração significativa de Cys/Ser, Hcy/Met e Tau/Met. Essas alterações denotam efeito poupador de Met e Cys pela Gln, com ação redutora da transulfuração ($\downarrow$ Cys e $\downarrow$ Ser, com Cys/Ser N). Estes efeitos foram associados

à menor formação de GSH (e também de GSSG) e Tau, sugerindo metabolização de excesso de Cys.

A adição de sobrecarga de Met à suplementação de Gln não alterou o padrão de resposta, isolado da Gln, para GSH/Gly-Glu-Cys (↑), GSH/Gly-Glu (↑), GSH/Glu (↑), GSH/Cys (↑), GSH/Gly (N), Gln/Glu (↑), Cys/Met (↓), Cys/Hcy (↓), Cys/Ser (N), Tau/Cys (↑), Tau/Met (N) e Hcy/Met (N).

Em relação à resposta da dieta habitual, a composição dietética Met-Gln, reduziu, nos pacientes, a área abaixo da curva de Met, normalizou as do Glu e GSH e aumentou, em ambos, controles e pacientes, a de Cys. Observação: a Gln aumenta GSH via Glu, que tem efeito redutor da transulfuração, economizando Met (e Ser) sem afetar maior utilização de Cys em GSH e Tau.

4.5.5. Comportamento dos grupos em ambas as suplementações frente à dieta habitual

No grupo controle não houve diferença de quaisquer suplementações sobre GSH, GSSG, GSSG/GSH, Cys, Gly, Met, Hcy, Ser e Tau (Tabela 12).

NAC e Gln elevaram significativamente, de modo semelhante, as concentrações de Gln e Glu ($p = 0,0001$) e NAC elevou ($p < 0,05$), mas sem discriminação das demais dietas, as concentrações de Cys e Tau (Tabela 12). Assim, a NAC parece economizar Gln e Glu, além de elevar Cys e Tau.

No grupo de pacientes, as suplementações geraram alterações, com exceção de GSSG, Gln e Glu. NAC e Gln agiram de forma semelhante na redução de Ser e de GSSG/GSH e no aumento de Tau. Apenas a NAC

aumentou significativamente Met, Hcy e Cys (NAC poupa Met?). Somente a Gln aumentou a Gly e ambas elevaram GSH com NAC > Gln (Tabela 13). No geral, ambas agem sinergicamente em controles e, principalmente em pacientes, com a NAC apresentando efeitos mais amplos sobre os aminoácidos sulfurados e a Gln sobre a Gly ((↑) e Ser (↓)).

Ambos os suplementos apresentaram, no HIV+, maiores elevações de GSH/Gly-Glu-Cys (NAC = Gln), GSH/Gly-Glu (NAC > Gln) e GSH/Cys (NAC > Gln). Apenas Gln elevou GSH/Glu e nenhuma das duas afetou significativamente GSH/Gly. Ambas elevaram, de modo semelhante, Gln/Glu e Cys/Ser e, apenas NAC reduziu Tau/Cys e nenhuma delas afetou Cys/Met, Cys/Hcy/ Tau/Met e Hcy/Met. Mesmo com essas alterações e apesar de suplementados, os pacientes continuaram a apresentar valores menores de Cys/Met e Cys/Hcy, maiores de GSSG/GSH, GSH/Gly-Glu-Cys, GSH/Gly-Glu, GSH/Cys e GSH/Glu (somente Gln), Gln/Glu e Tau/Cys e semelhantes de Cys/Ser. Esse padrão foi modificado pela sobrecarga de Met. Assim, os suplementos foram atuantes na formação de glutathiona com maior eficácia da NAC na incorporação de Cys e da Gln na incorporação de Glu. A utilização de Gly não sofreu influência alguma e ambas estimularam a formação de Glu (Gln/Glu) e Cys (Cys/Ser). A NAC foi efetiva também na menor utilização da Cys em Tau, drenando-a, provavelmente para GSH.

4.5.6. Comportamento dos grupos em ambas as suplementações frente à dieta washout

O washout não resultou em modificações significativas em relação à dieta habitual dos controles par a nenhuma das variáveis (Tabela 12) e relações GSH/Gly-Glu-Cys/ Gly-Glu, GSH/Cys, Gln/Glu, Cys/Met, Cys/Hcy, Cys/Ser, Tau/Cys, Tau/Met e Hcy/Met.

Para os pacientes, entretanto, durante o Wo houve elevação da Met, Tau e GSH (Tabela 13) e também da relações Tau/Met e GSH/Gly-Glu e redução da Ser e GSH/Glu.

Em relação a essas alterações, os efeitos das suplementações podem ser corrigidos e desaparecem nas variáveis: Met, Ser, Tau, persistindo apenas para $\uparrow$ Hcy (NAC), $\uparrow$ Cys (NAC), $\uparrow$ GSH (NAC e Gln) e $\downarrow$ GSSG/GSH (NAC e Gln) (Tabela 13). Desaparecem os efeitos das suplementações nas relações GSH/Gly-Glu-Cys, GSH/Gly-Glu e Gln/Glu para NAC e Gln e GSH/Gly, apenas para NAC e introduzindo a diferenciação de Tau/Met (Wo > demais).

A sobrecarga de Met no período de Wo diferenciou o padrão da dieta habitual, nos controles, apenas pela elevação significativa da Tau, neutralizando o efeito da NAC, mas mantendo-se acima da Gln (igual a DH) (Tabela 28). Situação semelhante ocorreu nos pacientes (Tabela 29). Assim, comparativamente ao Wo, persistiram os efeitos das suplementações, nos pacientes, $\uparrow$ Hcy (NAC $\geq$ Gln), $\uparrow$ Cys (NAC $\geq$ Gln), $\uparrow$ Tau (somente Gln e não mais NAC), $\uparrow$ Gly (Gln), $\uparrow$ GSH (somente NAC e não mais Gln) e $\downarrow$ GSSG/GSH (NAC $\leq$ Gln). Por outro lado, desapareceram os efeitos da $\uparrow$ GSSG (NAC =

Gln) (Tabela 29) e das relações GSH/Gly-Glu-Cys, GSH/Gly-Glu, GSH/Cys e Cys/Hcy para NAC e Gln e GSH/Gly para NAC, introduzindo a modificação Tau/Met (Wo > demais).

5. DISCUSSÃO

5.1. Características metabólico-nutricionais dos indivíduos infectados pelo HIV

O estresse oxidativo acompanha a infecção pelo HIV, consumindo GSH e produzindo GSSG. Vários mecanismos são propostos para explicar o estresse oxidativo e a deficiência antioxidante na aids (BORGES-SANTOS, 2002). O estresse oxidativo e o processo inflamatório com elevação de TNF-alfa ocorrem mesmo durante a HAART, podendo levar à diminuição da função e apoptose de linfócitos CD_4^+ e replicação viral (BORGES-SANTOS et al., 2005b).

Assim, embora durante a HAART ocorra melhora da defesa antioxidante, o estresse oxidativo ainda persiste e pode contribuir para a imunodeficiência persistente nos pacientes HIV+ e aumentar a toxicidade das drogas anti-retrovirais (BORGES-SANTOS et al., 2005b; TANG et al., 2005, AUKRUST et al., 2003).

Antes da HAART, a desnutrição protéico-energética era evento freqüentemente observado em indivíduos infectados pelo HIV. Com a introdução desta terapia anti-retroviral, as deficiências de macronutrientes tornaram-se incomuns, porém a importância dos micronutrientes continua sendo foco de destaque na infecção pelo HIV, particularmente associada à HAART (TANG et al., 2005).

O estresse oxidativo está associado à síndrome lipodistrófica de indivíduos HIV sob uso de HAART, de modo que, a infecção pelo HIV e seu

tratamento podem aumentar o risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

A caracterização bioquímico-nutricional dos pacientes revelou um perfil aterogênico, com grau leve de sobrepeso, concentrações séricas elevadas de triacilgliceróis, LDL-colesterol e glicose e diminuição da fração HDL do colesterol. Adicionalmente, esse quadro aterogênico poderia ser potencializado se fossem acrescentadas as concentrações limítrofes de Hcy (fator de risco independente para doenças cardiovasculares), acompanhadas de redução dos níveis de folato.

A aterogênese é reconhecidamente um processo inflamatório que, manifestado de forma crônica, pode comprometer o estado nutricional do indivíduo. Entretanto, não foi o caso para o grupo de pacientes estudados, já que a albuminemia, utilizada como indicador nutricional protéico, manteve-se dentro da faixa de normalidade. A calcemia também se eleva durante as condições de inflamação, mas também se manteve dentro do normal no grupo de estudo.

Segundo a definição do Terceiro Painel de Tratamento em Adultos do Programa Nacional de Educação em Colesterol ("The Adult Treatment Panel – ATP III of the National Cholesterol Education Program – NCEP") (2001), a Síndrome Metabólica (SM) é diagnosticada quando o indivíduo apresenta pelo menos três das seguintes características: circunferência abdominal > 102 cm e > 88 cm em homens e mulheres, respectivamente; trigliceridemia > 150 mg/dL; HDL-colesterol sérico < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres; glicemia > 110 mg/dL; pressão arterial sistólica $\geq$ 130 mmHg e diastólica $\geq$ 85

mmHg. Desta maneira, as alterações bioquímicas observadas nos pacientes (elevação de glicose e triglicerídios e diminuição de HDL-colesterol) caracterizam-nos como portadores de SM. De fato, tais anormalidades antropométrico-metabólicas são frequentemente associadas à terapia anti-retroviral potente, particularmente quando a mesma contém inibidores de protease (IPs) (LO et al., 1998; CARR et al., 1998; VIRABEN & AQUILINA, 1998; MILLER et al., 1998; KOTLER et al., 1999; BUSS & DUFF, 1999; MEININGER et al., 2002).

A SM aumenta o risco de morte por doenças cardiovasculares na população em geral (ISOMAA et al., 2001; FORD et al., 2002; LAKKA et al., 2002; ASCASO et al., 2003; NINOMIYA et al., 2004) e, em pacientes HIV+, esse risco pode ser cerca de duas vezes maior (The Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (DAD) Study Group, 2003).

A evidente dislipidemia do grupo de pacientes do presente estudo, é frequentemente relatada como a mais comum alteração observada na lipodistrofia de HIV+ (TRINDADE, 2004; ROBINSON, 2005). Um dos mecanismos propostos para esse fenômeno, é a homologia existente entre as enzimas envolvidas no metabolismo lipídico (proteína ligadora do retinol -1 e receptor de LDL) e a protease do HIV. Desta maneira, o tempo de utilização de inibidores de protease poderia levar à inibição dessas enzimas reguladoras do metabolismo lipídico e consequentemente à síndrome da lipodistrofia observada nos indivíduos infectados pelo HIV (CARR, 2000).

Entretanto, há ainda aqueles pacientes com perda de gordura que não fazem uso de inibidores de protease, sugerindo o envolvimento de outros fatores no desenvolvimento da lipodistrofia dos portadores de HIV. Neste

sentido é que as lipodistrofias e atrofias mostram a relevância dos adipócitos na patogênese das anormalidades metabólicas (LEOW, 2003).

Outros estudos sugerem que as complicações metabólicas observadas nos indivíduos infectados pelo HIV sob uso de HAART podem advir da toxicidade mitocondrial induzida pelas drogas anti-retrovirais (BRINKMAN et al., 1999; VIGOUROUX et al., 1999; CARR et al., 2000). E, embora o mecanismo exato ainda não seja completamente entendido, destaca-se o envolvimento do estresse oxidativo aumentado na disfunção mitocondrial (DE LA ASUNCION et al., 1998; ALLARD et al., 1998; HURWITZ et al., 2004).

De fato, as concentrações de ácido úrico e GSH, estiveram diminuídas e GSSG e Hcy, acima do normal nos pacientes do presente trabalho, sugerindo o envolvimento do estresse oxidativo nesse perfil lipoglicídico, com elevado consumo de antioxidantes.

A toxicidade ao fígado e rins são outros efeitos adversos associados ao uso de drogas anti-retrovirais que podem ser observados tanto em indivíduos assintomáticos quanto sintomáticos (RUDORF & KRIKORIAN, 2005). No presente estudo, a toxicidade hepática poderia ser sugerida pelas elevadas concentrações GGT no grupo de pacientes. Entretanto, a filtração glomerular avaliada neste estudo, pela creatinina plasmática mostrou que todos os valores estavam dentro da faixa de normalidade.

Assim, atualmente, indivíduos HIV+ convivem cronicamente com a infecção e a terapia anti-retroviral. Neste sentido, é emergente a necessidade de se determinar o papel dos micronutrientes, particularmente aqueles com ação antioxidante, nessa infecção crônica e minimizar os efeitos da lipodistrofia

e das desordens metabólicas (resistência à insulina e dislipidemias), que contribuem para as morbidades dessa co-infecção.

5.2. Sobrecarga oral de metionina

Durante o jejum, as concentrações de Cys são mantidas, principalmente pelo turnover da GSH (FUKAGAWA et al., 1996) e, após sobrecarga de metionina, a maior parte da Cys pode vir da via de transulfuração (STIPANUK, 2004). Neste sentido, a Met também poderia ser utilizada para o aumento da síntese de GSH, mesmo sobre condições de disfunção hepática (BIANCH, 2000).

Entretanto, no grupo de pacientes do presente estudo, a oferta de dose oral de Met (100 mg/kg) não modificou o padrão plasmático da GSH, nem de seus precursores.

A Cys metabolizada a partir da metionina também pode ser utilizada para a síntese de proteínas hepáticas (STIPANUK et al., 1992) ou então sofrer rápida catabolização a Tau (TATEISHI et al., 1981). As duas hipóteses são válidas para o grupo de pacientes estudado neste trabalho, visto a demanda maior de proteínas para o intenso processo oxidativo-inflamatório desses indivíduos. Também foi observada, no presente estudo, maior concentração plasmática de Tau, cujos níveis aumentaram gradativa e significativamente após a sobrecarga de Met, sugerindo esta como a principal via de excreção do excesso da ingestão sulfurada na forma isolada de Met.

As enzimas hepáticas envolvidas no catabolismo hepático da Cys (CDO e CSD) respondem rapidamente às dietas hiperprotéicas ou suplementadas com aminoácidos sulfurados, observando-se elevação de CDO e diminuição de CSD, com elevada taxa de excreção de Tau na urina (STIPANUK et al., 2002).

Entretanto, em trabalho posterior, Cresenzi et al. (2003) demonstram que tais alterações ocorriam apenas na atividade enzimática, pois tanto a transcrição gênica, quanto a tradução do mRNA da CDO não sofriam influência dietética.

Neste caso, então, a regulação da CDO ocorreria pela sua taxa de degradação via sistema ubiquitina/proteossoma dependendo das concentrações de Cys, de modo que, em situações de Cys baixa, haveria rápida ubiquitinação e degradação da CDO via proteossoma 26S, mantendo seus níveis baixos e conservando a Cys. Por outro lado, em situações de elevação de Cys, a mesma bloquearia o sítio de ligação para ubiquitinação da CDO, permitindo o aumento dos níveis desta enzima até que se atinja o equilíbrio novamente (STIPANUK, 2004).

Os tecidos extra-hepáticos mostram pouca resposta à alteração dos aminoácidos sulfurados da dieta, talvez porque o fígado controle os níveis corporais de Cys de maneira efetiva e as células dos outros tecidos não sejam expostos a concentrações elevadas de Cys.

A Cys plasmática não reflete apenas o estado de metionina. Em estudo de cinética de aminoácidos, Fukagawa et al. (1996) demonstraram que a elevação da Cys plasmática era superior àquela predita pela cinética da

metionina, sugerindo que quantidade adicional de Cys advinha do turnover da GSH por ação da GGT e de peptidases ligadas à membrana plasmática.

Posteriormente, essa hipótese foi confirmada pela cinética da metionina e Cys após infusão de GSH, em que os níveis de Cys plasmáticos aumentam quase na dose equivalente de suplementação de GSH, mostrando que grande parte da Cys vem do turnover de GSH (FUKAGAWA et al. 1996).

Os resultados obtidos nesses trabalhos reforçam a idéia da importância da GSH para o suprimento de Cys e do controle, pelas concentrações plasmáticas de Cys, sobre o metabolismo dos aminoácidos sulfurados.

A GCS apresenta importante papel na disponibilidade de substratos para a síntese de GSH, uma vez que ela não sofre influência da dieta. A resposta da GCS é maior sob administração de Cys do que de Met (TATEISHI et al., 1981; DUBICK et al., 1985), confirmando os resultados observados no grupo de pacientes do atual trabalho, cujas concentrações plasmáticas de Cys e GSH não foram elevadas após sobrecarga de Met.

Assim, as enzimas envolvidas no metabolismo dos aminoácidos sulfurados respondem às mudanças dietéticas, particularmente à ingestão de Met e Cys, determinando o fluxo da Cys para síntese ou catabolismo (BELLA & STIPANUK, 1995).

A CSD responde, indiscriminadamente, com diminuição da sua atividade, frente à oferta protéica ou de Met. Contudo, sua diminuição é menos expressiva com a suplementação de Met, favorecendo a formação e excreção de Tau. Adicionalmente, acredita-se que o aumento da atividade da CDO

funcione como um mecanismo de detoxificação para a remoção do excesso de Cys (BELLA et al., 1999).

Desta maneira, os resultados do presente trabalho concordam com estudos anteriores em que não foram observadas alterações de Cys nem de Tau após sobrecarga de Met em indivíduos saudáveis (OBEID et al., 2004; RAIJMAKERS et al., 2003; SULIMAN et al., 2001; UBBINK et al., 1996; MANSOOR et al., 1992a). Mas os mecanismos limitantes da metabolização sulfurada em indivíduos HIV+, sob a oferta de dose única de Met, necessitam maiores esclarecimentos. Sugere-se que em ambos os grupos de indivíduos haja maior excreção urinária dos aminoácidos sulfurados e seus metabólitos (OBEID et al., 2004; RAIJMAKERS et al., 2003; SULIMAN et al., 2001; UBBINK et al., 1996; MANSOOR et al., 1992a). Todavia, em nenhum dos estudos foi realizada quantificação urinária de sulfurados, provavelmente, como no caso do estudo atual, pela limitação metodológica da coleta de urina dos indivíduos.

5.3. Comportamento dos grupos na dieta habitual

As concentrações reduzidas de GSH, observadas no presente trabalho, têm sido constatadas em indivíduos infectados pelo HIV (HELBLING et al., 1996; JAHOOR et al., 1999; AUKRUST et al., 2003; BORGES-SANTOS et al., 2004) e está associada à piora da função imune desses pacientes (DROGE et al., 1991; STAAL et al., 1992). Tal deficiência pode estar associada ao aumento da utilização ou menor síntese secundária à diminuição na disponibilidade de substratos (HELBLING et al., 1996; JAHOOR et al., 1999).

Sabidamente, em condições patológicas, os três aminoácidos precursores da síntese de GSH (Gln, Gly e Cys) tornam-se indispensáveis (GRIMBLE, 2005).

Em estudo realizado por Jahoor et al. (1999), apenas o suprimento de Cys modificou a síntese de GSH em indivíduos infectados pelo HIV, já que os níveis dos outros dois aminoácidos constituintes estavam normais. Entretanto, no presente trabalho, tanto o suprimento de Gln quanto de Cys podem ter contribuído para a deficiência de GSH, pois suas concentrações basais (M0) estavam abaixo do valor de referência para a população saudável. Esses resultados concordam com estudos prévios mostrando a deficiência de Cys e Gln em pacientes HIV+ (DROGE & HOLM, 1997; DROGE et al., 1997).

As concentrações de GSH também podem diminuir devido à redução da ingestão protéica, mas se elevam por ação de citocinas devido à adaptação ao estresse fisiológico (BAUMAN et al., 1988; HUNTER & GRIMBLE, 1994).

No indivíduo com HIV, a deficiência de aminoácidos ocorre, principalmente, pelo intenso catabolismo presente nesses pacientes. A diminuição da concentração de Cys e de sulfato seria parcialmente devida à elevação da síntese de GSH hepática e do catabolismo da Cys muscular, respectivamente. O catabolismo muscular é potencializado pelo padrão citocínico pró-inflamatório crônico desses indivíduos (com elevação de IL-1, IL-6 e TNF- α), comprometendo a resposta adaptativa na infecção pelo HIV (HACK et al., 1997).

Desta maneira, a inflamação persistente na infecção pelo HIV, que pode aumentar o consumo de GSH em decorrência do maior estresse oxidativo

desencadeado pelas citocinas (BORGES-SANTOS et al., 2004), também sobrecarrega o fígado na metabolização de drogas e metabólitos, visto que o TNF-alfa diminui a atividade da citocromo P-450 (GHEZZI et al., 1986).

Paralelamente, a demanda para aminoácidos sulfurados pode aumentar durante a inflamação, com elevação da excreção de sulfato como consequência da elevação do catabolismo protéico muscular e metabolismo hepático para a síntese de proteínas de fase aguda e mediadores inflamatórios.

A recuperação dos níveis de GSH após inflamação pode estar associada ao aumento na sua síntese e reciclagem, mesmo com a diminuição da ingestão dietética, que restringe sua reciclagem hepática, mas que o organismo compensa elevando-a nos pulmões. Entretanto, esse processo auxilia a manter as concentrações de GSH quando há restrição alimentar, mas não funciona se o organismo continuar sob processo inflamatório (HUNTER & GRIMBLE, 1997).

Em estudo experimental, Breitzkreutz et al. (2000) relataram intensa excreção de sulfato, na infecção pelo HIV, equivalente a 10 g de Cys por dia. Mantendo-se a ingestão e excreção dentro do normal, poder-se-ia extrapolar perda de 2 kg de Cys por ano.

Um dos mecanismos propostos para essa perda massiva é o catabolismo protéico controlado, em que a excreção de Cys ocorreria para poupar o nitrogênio protéico e conter o catabolismo (DROGE & HOLM, 1997).

A conversão de aminoácidos em glicose é dependente da taxa com que os íons amônio são convertidos em uréia ou glutamina no fígado, condição esta, denominada catabolismo protéico controlado (HACK et al, 1997).

Sabe-se que a síntese de uréia é dependente da disponibilidade de íons bicarbonato na via de produção de carbamioilfosfato. Os processos geradores de prótons freqüentemente seqüestram o bicarbonato e podem limitar o processo de ureogênese em favor da síntese de glutamina. Por este mecanismo, o catabolismo da Cys, que gera sulfato e prótons, pode regular a produção de uréia a favor da síntese de glutamina e, com isso, preservar o nitrogênio do pool aminoácidos sob a forma de Gln.

Indivíduos saudáveis podem regular a deficiência temporária de aminoácidos ativando essa resposta metabólica adaptativa temporária no músculo esquelético.

Estudos mostram associação entre o aumento da relação uréia/Gln e diminuição hepática de sulfato e de Cys plasmática em animais (GROSS et al., 1996; HACK et al, 1997). A relação uréia/Gln observada nos pacientes do presente estudo foi duas vezes maior do que nos controles (dados não mostrados) e a concentração plasmática de Cys era 62% menor do que os controles, indicando provável deficiência de Cys pelo intenso catabolismo protéico durante a infecção pelo HIV.

Indivíduos saudáveis podem regular a deficiência temporária de aminoácidos ativando essa resposta metabólica adaptativa temporária no músculo esquelético para aumento da concentração plasmática e conseqüente catabolismo hepático da Cys.

Entretanto, esse catabolismo controlado é perdido em determinadas condições incluindo a senescência e a infecção pelo HIV. Nessas situações, a liberação de Cys muscular pode ser comprometida pela sua maior conversão a

Tau. Ainda assim, na senescência, há aumento da concentração sistêmica de Cys, apesar da diminuição do seu catabolismo hepático.

Contudo, nos indivíduos infectados pelo HIV, o excessivo consumo da defesa antioxidante e, conseqüentemente de Cys e GSH, não permite que essa resposta adaptativa cesse, levando à perda do equilíbrio e homeostase dos tióis (HACK et al., 1997).

Droge et al (1991) e kinscherf et al (1997) propuseram que, na infecção pelo HIV, a diminuição na síntese de Cys a partir de cistina ocorre pela competição com o glutamato pelo transporte intracelular. Segundo kinscherf et al. (1997) os níveis de Glu elevados nesses pacientes. Entretanto, este não parece ser o caso no presente estudo, onde as concentrações de Glu foram semelhantes entre controles e pacientes. Adicionalmente, as concentrações de Cys elevaram-se frente à sobrecarga de Met, não demonstrando limitação enzimática para a síntese desse aminoácido.

A disfunção hepática, particularmente pelo aumento da atividade da GGT, pode comprometer as concentrações de GSH pelo aumento acelerado do seu consumo, uma vez que ele é o principal substrato desta enzima para a quebra e transporte intermembrana de GSH e oferta celular para a síntese de novo deste antioxidante (CURTHOYS & HUGHEY, 1979; PEACOCK et al., 1994; HANIGAN et al., 1994).

Adicionalmente, na infecção pelo HIV, as células apresentam alteração da relação GSH/GSSG, com elevação dos níveis de GSSG e diminuição de GSH, acompanhada pela diminuição de outros antioxidantes

como vitaminas C e E e elevação de pró-oxidantes incluindo o malonildialdeído (BORGES-SANTOS et al., 2004).

Sabe-se que o estresse oxidativo que acompanha a infecção pelo HIV consome GSH e produz GSSG, forma oxidada, sem função antioxidante que necessita sofrer regeneração enzimática a GSH novamente ou ser exportado pela célula (STAAL et al., 1992).

A atividade da GR pode ser outro mecanismo envolvido na diminuição das concentrações de GSH. A GR, num processo dependente de vitamina B2, converte rapidamente GSSG em GSH. Contrariamente aos resultados de Buhl et al. (1989) e Helbling et al. (1996), essa parece ser uma das deficiências dos pacientes do presente estudo, já que os pacientes apresentaram concentrações extremamente elevadas de GSSG (várias vezes dos controles). Há pelo menos duas hipóteses adicionais para a persistência do aumento das concentrações de GSSG em indivíduos HIV+ sob HAART: deficiência de vitamina B2, que limitaria a atividade da GR, e metabolização das drogas anti-retrovirais, que consumiria a GSH de forma irreversível durante o processo de detoxificação hepática.

Não há até o momento, dados científicos que comprovem a deficiência de vitamina B2 e alteração da GR em indivíduos infectados pelo HIV. Quanto à metabolização hepática de drogas, vários trabalhos mostram diminuição da hipersensibilidade às drogas durante a suplementação com NAC, que funcionaria com potente agente detoxificador e pouparia a GSH em indivíduos HIV+ (PATRICK, 2000; PARCELL, 2002).

Assim, os indivíduos HIV+ do presente trabalho apresentaram menores concentrações plasmáticas de GSH, apesar do maior consumo de Cys para sua geração. Então, possivelmente, o limitante para a formação da GSH continue sendo a Cys, uma vez que a sua formação também esteve diminuída nesses pacientes. De modo que, se os indivíduos apresentassem normalização de Cys, poderia promover a homeostase da GSH.

Entretanto, para a regulação das concentrações plasmáticas de Cys há um fino controle das enzimas envolvidas, tanto na sua síntese como na degradação. Estas enzimas atuam harmonicamente para a manutenção dos níveis de Cys no organismo (STIPANUK, 2006).

Durante o jejum, a síntese de Cys a partir da metionina é limitada a cerca de 15% (FUKAGAWA et al., 1996).

O fluxo de Cys é determinado pela entrada de cist(e)ína na circulação após sua liberação do catabolismo protéico tecidual ou turnover de GSH. Quando as concentrações plasmáticas de Cys estão adequadas, o fígado toma grande parte dos aminoácidos sulfurados para armazenamento sob a forma de GSH (FUKAGAWA et al., 1996).

Quando há aumento de Cys, o fígado converte rapidamente a Cys em Tau (STIPANUK, 2004). A conversão de Cys em Tau é controlada pela atividade da CDO, que por sua vez sofre influência dos níveis e estado redox da Cys (COLOSO et al., 1990; STIPANUK et al, 1992). A Cys no seu estado reduzido é preferida pela CDO para clivagem de Cys a cisteinasulfinato que, posteriormente é metabolizada à Tau e sulfato pela CSD ou piruvato e sulfato sob ação da AST. Quando está oxidada na forma de cistina ela é rapidamente

clivada a piruvato e sulfato por ação da gama cistationinase (COLOSO et al., 1990; STIPANUK et al., 1992), limitando sua disponibilidade para ação da CDO.

Sabidamente, o ambiente intracelular é mais reduzido, onde a Cys é rapidamente metabolizada, sem influência do estado redox. Todavia, no sangue, onde o ambiente é mais oxidado, o sistema redox compromete a via de catabolismo da Cys.

No grupo de pacientes deste trabalho, o ambiente redox plasmático estava altamente oxidado, dadas as concentrações plasmáticas elevadas de GSSG observadas nestes indivíduos, sugerindo provável limitação na síntese de Tau, cujas concentrações plasmáticas encontravam-se diminuídas em relação ao grupo controle.

Os rins auxiliam o fígado no controle da concentração de Cys (hidrolisando a GSH pela ação da GGT e oferecendo Cys de volta à circulação) e Tau (convertendo Cys em Tau pela ação da CSD) (STIPANUK, 2004).

Deste modo, as concentrações de Tau estão relacionadas tanto às atividades da CDO como de GCS, que sofrem mudanças de acordo com as concentrações de Cys (STIPANUK et al., 2002; BELLA et al., 1999).

A atividade da GCS é inibida pela GSH, favorecendo a formação de Tau e sulfato (STIPANUK, 2006), demonstrando que a síntese de GSH prioriza o armazenamento de Cys e, portanto, pode aumentar em decorrência de deficiência deste aminoácido. A degradação de Cys à Tau e sulfato pode funcionar como uma via de excreção do excesso de Cys (STIPANUK, 2004).

5.4. Suplementação de NAC

As concentrações reduzidas de GSH, observadas nos indivíduos infectados pelo HIV no presente trabalho, também têm sido constatadas em trabalhos anteriores (HELBLING et al., 1996; DROGE & HOLM, 1997; LOOK et al., 1997, JAHOOR et al., 1999; BREITKREUTZ et al., 2000; AUKRUST et al., 2003; BORGES-SANTOS et al., 2004) e está associada à piora da função imune desses pacientes (DROGE et al, 1991; STAAL et al, 1992). Tal deficiência pode estar associada ao aumento da utilização ou menor síntese secundária à diminuição na disponibilidade de substratos (HELBLING et al., 1996; JAHOOR et al. 1999).

Apesar disso, a HAART tem sido largamente empregada de maneira isolada para a melhora dos parâmetros clínicos, virais e imunológicos de pacientes HIV+. Entretanto, nem todos os pacientes respondem ao tratamento de modo satisfatório e conseqüentemente, surgem linhagens resistentes às drogas anti-retrovirais, bem como inúmeros efeitos colaterais pelo uso continuado da HAART (CHEN et al., 2005).

Adicionalmente, mesmo com o sucesso obtido com a HAART parece que a imunodeficiência associada ao HIV persiste em vários graus durante a terapia medicamentosa. Além disso, ela não erradica o vírus, de modo que células T cronicamente infectadas persistem mesmo ao longo de vários anos de terapia anti-retroviral (COHEN, 1997; GROSSMAN et al., 1999).

A diminuição da carga viral durante a HAART pode ser a principal responsável pelos benefícios na melhora da proliferação de CD_4^+ , elevação de

GSH e vitaminas antioxidantes, mas a normalização da defesa antioxidante necessitaria de suplementação antioxidante nos indivíduos com HIV, mesmo após a introdução da terapia anti-retroviral, uma vez que esses indivíduos não alcançam os valores observados em indivíduos saudáveis (AUKRUST et al., 2003; BORGES-SANTOS et al., 2005b).

Paralelamente, as ERO são continuamente produzidas nos processos fisiológicos por meio de reações bioquímicas, de modo que o equilíbrio desse sistema formador de pró-oxidantes é mantido graças ao consumo de antioxidantes.

Entretanto, em indivíduos HIV+, o estado redox pode ser comprometido pelas intercorrências da doença e uso de medicamentos, com acelerada produção de substâncias pró-oxidantes e elevando consumo de antioxidantes, resultando no aumento de morbidade e sobrevivência diminuída desses indivíduos.

Neste sentido, o sistema imune é o primeiro a sofrer as consequências da deficiência antioxidante, particularmente de Cys, visto que ela é precursora da GSH, essencial para a proliferação e função de linfócitos T e citotoxicidade de células NK (BREITKREUTZ et al., 2000). Indiretamente, ela reprime a replicação viral induzida pelo NF-kB após estímulo com TNF-alfa (BORGES-SANTOS, 2002). Adicionalmente, ela melhora a sobrevivência de indivíduos infectados pelo HIV (HERZENBERG et al., 1997; PARCELL, 2002).

Como observado no presente trabalho, a suplementação de NAC recuperou os níveis de Cys e dos demais componentes derivados do seu metabolismo, sugerindo que ela possa funcionar como um potente

imunoestimulante em diferentes estágios da doença. Esses resultados concordam com estudos publicados anteriormente (JAHOOR et al., 1999; TREITINGER et al., 2004).

Segundo Treitinger et al. (2004), a dose de suplementação de NAC e a distribuição diária das doses devem ser levadas em consideração para que os benefícios sejam observados. Nesse estudo, a suplementação com NAC (600 mg/dia em dose única) melhorou as concentrações de Cys e GSH, mas foi insuficiente para que os pacientes alcançassem os valores dos controles e mostrassem diferença significativa dos HIV+ sem suplementação. No presente estudo, a dose de NAC suplementada foi quase duas vezes maior (1000 mg/dia distribuídas em duas doses) e os pacientes não só aumentaram as concentrações plasmáticas de Cys como também alcançaram os valores dos controles pré-suplementação.

Adicionalmente à melhora das concentrações de todos os sulfurados, a suplementação com NAC melhorou o estado de Gln nos pacientes. Esses achados confirmam hipóteses levantadas em estudos prévios (DROGE & HOLM, 1997).

Sabidamente, a relação Gln/Cys baixa denota catabolismo protéico intenso, com excessiva perda nitrogenada e de sulfato (DROGE & HOLM, 1997), sugerindo maior quantidade de Cys necessária para satisfazer as necessidades do indivíduo HIV+, incluindo a maior demanda na síntese de GSH. No atual trabalho os pacientes apresentavam concentrações de Gln cerca de 40% menores do que os controles.

Paralelamente, a suplementação da NAC igualou as concentrações de GSH entre pacientes e controles, mas não foi efetiva na diminuição da GSSG, sugerindo deficiência na reciclagem pela ação diminuída da GR, principalmente se acompanhada de níveis diminuídos do seu cofator, a vitamina B2. Concentrações aumentadas de GSSG em indivíduos HIV+ foram relatadas previamente (AUKRUST & MULLER, 1999), entretanto limitações metodológicas promovem resultados conflitantes entre os trabalhos.

A transulfuração e síntese de GSH são alvos fundamentais para o controle de oxido-redução, já que os produtos finais desses passos metabólicos estão envolvidos na homeostase redox (DEPLANCKE & GASKINS, 2002).

Neste sentido, o ambiente oxidado inibe a remetilação e ativa a transulfuração. Além disso, a transcrição de GCS e GS parece ser controlada por interação complexa envolvendo PKC e AP-1, cujos domínios contendo Cys, determinam, de acordo com o estrado redox, sua atividade enzimática e ligação ao DNA para o controle redox da função celular normal (DEPLANCKE & GASKINS, 2002).

Paralelamente, a GS é um homodímero também sensível ao estado redox e altamente dependente da atividade da Cys. Num estudo realizado por Gali & Board (1997), a atividade da GS diminuiu 95% quando a fração Cys da molécula foi substituída pela Arg.

Adicionalmente, a transcrição do gene da GS é induzida por oxidantes com ação também nas atividades da GCS. Esse processo mostra que a expressão gênica das enzimas envolvidas na síntese de GSH é

dependente dos mesmos fatores redox, mas pode estar comprometida nos indivíduos com HIV, que apresentam elevado grau de estresse oxidativo.

Além de reverter o estado redox e restaurar as concentrações de Cys, a suplementação de NAC pode manter a relação massa magra/massa gorda dentro do normal, mostrando o importante papel da Cys na regulação fisiológica da massa celular corporal em indivíduos HIV+ (DROGE, 1999).

Desta maneira, a ingestão deficiente de aminoácidos sulfurados associada à maior atividade das citocinas inflamatórias e terapia anti-retroviral compromete o estado da GSH em indivíduos infectados pelo HIV, mesmo com carga viral indetectável (BORGES-SANTOS et al, 2004; BORGES-SANTOS et al., 2005b; GRIMBLE, 2006).

Assim, a suplementação de NAC mostrou eficácia na normalização dos níveis dos aminoácidos sulfurados e de GSH, podendo beneficiar indivíduos infectados pelo HIV, sob HAART, particularmente se houver a presença de infecções secundárias, em que a demanda antioxidante é maior. Além disso, os resultados obtidos sugerem investigação no sistema redutase desses indivíduos para traçar estratégias de normalização do equilíbrio redox, particularmente GSSG/GSH.

5.5. Suplementação de Gln

As razões que fundamentam a suplementação de Gln em humanos advêm da importância deste aminoácido na fisiologia das células intestinais e

do sistema imune e da sua deficiência plasmática em situações de estresse metabólico (MILLER, 1999).

A importância da Gln para a síntese de GSH tem documentação apenas em estudos *in vitro* (WESSNER et al., 2003). Em humanos, a demonstração da sua eficácia é limitada pelas características de desenho dos estudos, que geralmente não possibilitam comparação entre os mesmos (NOVAK et al., 2002; GARCIA DE LORENZO et al., 2003; ALPERS, 2006).

Em seu estudo, Shabert et al. (1999) observou aumento na massa magra de indivíduos HIV+, entretanto, a utilização da suplementação conjunta de NAC e Gln, não permite a interpretação da eficácia da Gln isoladamente.

Os resultados obtidos no presente estudo, suportam que a suplementação com 20 g/d de Gln durante uma semana foi capaz de economizar Met e Cys, pela diminuição da via de transulfuração e aumento de níveis de Tau e GSH, normalizando os níveis deste último.

A economia da Cys, observada no atual trabalho, e os resultados de Shabert et al., 1999, confirmam a hipótese levantada anteriormente, de que os pacientes infectados pelo HIV apresentam perda acelerada de massa celular e seriam beneficiados pela suplementação de aminoácidos que elevassem as concentrações de Cys.

Este trabalho mostra a eficácia isolada da suplementação de Gln sobre as concentrações de aminoácidos sulfurados e síntese de GSH em pacientes HIV+.

A adição de Met, pelo teste de sobrecarga, manteve o padrão de resposta observado apenas com a suplementação de Gln nos pacientes HIV+,

mas aumentou as concentrações de Gly, Glu e GSH/Glu e economizou Met e Cys, sugerindo a maior disponibilidade de Glu e Cys como mecanismo para a elevação de GSH.

Assim, a suplementação de Gln promoveu elevação das concentrações de Gln e Glu de modo semelhante à NAC, mas apenas a Gln disponibilizou mais Glu para a síntese de GSH, sugerindo ação sinérgica das duas suplementações para a síntese de GSH, com a NAC agindo via Cys e Gln aumentando a incorporação de Glu, sem efeito sobre a Gly.

6. CONCLUSÕES

- ❖ Indivíduos infectados pelo HIV apresentam deficiência de todos os aminoácidos sulfurados, exceto Hcy, associadamente aos menores níveis de GSH (com predomínio da forma oxidada) e redução dos seus aminoácidos precursores Gly, Glu e Cys.
- ❖ A oferta de NAC elevou as concentrações de todos os aminoácidos sulfurados e GSH e melhorou o estado redox (GSSG/GSH) dos pacientes.
- ❖ A suplementação de NAC sobreposta à sobrecarga de metionina, elevou as concentrações GSH dos pacientes, superando os valores dos controles, mas sem efeito sobre a diminuição de GSSG.
- ❖ A oferta de GLN igualou os grupos nas concentrações de Met, Gly e GSH, mas os pacientes continuaram com valores menores de Ser, Cys, Tau, Glu e Gln e maiores de GSSG e GSSG/GSH.
- ❖ A superposição da oferta de Met sobre a Gln normalizou os valores das áreas de GSH e Gln, elevou o valor da área de Cys nos pacientes, sem alcançar os valores dos controles.
- ❖ Ambas as suplementações apresentaram efeitos sinérgicos sobre a elevação de GSH e de seus precursores, nos pacientes. A Gln foi mais eficaz na incorporação de Glu e a NAC na de Cys e menor conversão de Cys em Tau.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

AKERLUND, B.; JARSTRAND, C.; LINDEKE, B.; SONNERBORG, A.; AKERBLAD, A.C.; RASOOL, O. Effect of N-acetylcysteine(NAC) treatment on HIV-1 infection: a double-blind placebo-controlled trial. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, v.50, n.6, p.457-461, 1996.

ALLARD, J.P.; AGHDASSI, E.; CHAU, J.; SALIT, I.E.; WALMSLEY, S.L. Oxidative stress and antioxidant micronutrients in humans with HIV infection. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.67, p.143-147, 1998.

ALPERS, D.H. Glutamine: do the data support the cause for glutamine supplementation in humans? **Gastroenterology**, v.130, v.2, suppl 1, p.S106-S116, 2006.

ANDERSSON, A. et al. The effect of excess daily methionine intake on plasma Hcyteine after a methionine loading test in humans. **Clin. Chim. Acta**, v.192, p.69-76, 1990.

ANGELINI, G.; GARDELLA, S.; ARDY, M.; CIRIOLO, M.R.; FILOMENI, G.; DI TRAPANI, G.; CLARKE, F.; SITIA, R.; RUBARTELLI, A. Antigen-presenting dendritic cells provide the reducing extracellular microenvironment required for T lymphocyte activation. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.99, n.3, p.1491-1496, 2002.

ARNAUD, J.; FORTS, I.; BLACHIER, S.; KIA, D.; FAVIER, A. Simultaneous determination of retinol, α -tocopherol and β -carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography Biomedical**

Applications, Amsterdam, v.572, p.103-116, 1991.

ASCASO, J.F.; ROMERO, P.; REAL, J.T.; LORENTE, R.I.; MARTINEZ-VALLS, J.; CARMENA, R. Abdominal obesity, insulin resistance, and metabolic syndrome in a southern European population. **Eur. J. Intern. Med.**, v.14, n.2, p.101-106, 2003.

ASKANAZI, J.; CARPENTIER, Y.A.; MICHELSEN, C.B.; ELWYN, D.H.; FURST, P.; KANTROWITZ, L.R.; GUMP, F.E.; KINNEY, J.M. Muscle and plasma amino acids following injury. Influence of intercurrent infection. **Ann. Surg.**, v.192, n.1, p.78-85, 1980.

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

AUKRUST, P.; MULLER, F.; SVARDAL, A. M.; UELAND, T.; BERGE, R. K.; FROLAND, S. S. Disturbed glutathione metabolism and decreased antioxidant levels in human immunodeficiency virus-infected patients during highly active antiretroviral therapy--potential immunomodulatory effects of antioxidants. **J. Infect. Dis.**, v. 188, n. 2, p. 232-238, 2003.

AUKRUST, P.; MULLER, F.; LIEN, E. ; NORDOY, I.; LIABAKK, N.B.; KVALE, D.; ESPEVIK, T.; FROLAND, S.S. Tumor necrosis factor (TNF) system levels in human immunodeficiency virus-infected patients during highly active antiretroviral therapy: persistent TNF activation is associated with virologic and immunologic treatment failure. **J. Infect. Dis.**, v.179, n.1, p.74-82, 1999.

BAKER, J.K.; KAPEGHIAN, J.; VERLANGIER, A. Determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in blood plasma samples. **Journal of Liquid**

Chromatography, New York, v. 6, p. 1319-1332, 1989.

BANKI, K.; HUTTER, E.; GONCHOROFF, N.J.; PERL, A. Molecular ordering in HIV-induced apoptosis. Oxidative stress, activation of caspases, and cell survival are regulated by transaldolase. *J. Biol. Chem.*, v.273, n.19, p.11944-11953, 1998.

BANNAI, S. Transport of cystine and cysteine in mammalian cells. **Biochim. Biophys. Acta**, v.779, p.289-306, 1984.

BAUMAN, P.F.; SMITH, T.K.; BRAY, T.M. Effect of dietary protein deficiency and L-2-oxothiazolidine-4-carboxylate on the diurnal rhythm of hepatic glutathione in the rat. **J. Nutr.**, v.118, n.8, p.1049-1054, 1988.

BELLA, D.L. ; HIRSCHBERGER, L.L. ; HOSOKAWA, Y. ; STIPANUK, M.H. Mechanisms involved in the regulation of key enzymes of cysteine metabolism in rat liver in vivo. **Am. J. Physiol.**, v.276, p.E326-E335, 1999.

BELLA, D.L.; STIPANUK, M.H. Effects of protein, methionine, or chloride on acid-base balance and on cysteine catabolism. **Am. J. Physiol.**, v.269, p.E910-E917, 1995.

BIANCHI, G.; BRIZI, M.; ROSSI, B.; RONCHI, M.; GROSSI, G.; MARCHESINI, G. Synthesis of glutathione in response to methionine load in control subjects and in patients with cirrhosis. **Metabolism**, v.49, n.11, p.1434-1439, 2000.

BOERS, G. H. J. et al. Improved identification of heterozygotes for Hcytinuria due to cystathionine synthase deficiency by the combination of methionine loading and enzyme determination and enzyme determination in cultured fibroblasts. **Hum.**

Genet., v.69, p.164-169, 1985.

BORGES-SANTOS, M. D. **Estado pró-oxidante/antioxidante de pacientes infectados pelo HIV: influência da gravidade da doença e do estado nutricional do paciente.** 2002. 98p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BORGES-SANTOS, M. D.; BURINI, R. C. Bases metabólicas da suplementação de Cys. **Rev. Bras. Nutr. Clín.**, v.20, n.4, p.259-264, 2005a.

BORGES-SANTOS, M. D.; PARDINI, M. I.; BURINI, R. C. Efeito da gravidade da doença e da presença de medicação anti-retroviral sobre o estresse oxidativo de pacientes HIV+. **Rev. Bras. Nutr. Clín.**, v.20, n.3, p.127-132, 2005b.

BORGES-SANTOS, M. D.; PEREIRA, P. C. M.; BURINI, R. C. Deficiência antioxidante em pacientes HIV+, uma deficiência global ou específica de nutrientes? **Rev. Bras. Nutr. Clín.**, v.19, n.4, p.178-183, 2004.

BREITKREUTZ, R.; PITTACK, N.; NEBE, C.T.; SCHUSTER, D.; BRUST, J.; BEICHERT, M.; HACK, V.; DANIEL, V.; EDLER, L.; DROGE, W. Improvement of immune functions in HIV infection by sulfur supplementation: two randomized trials. **J. Mol. Med.**, v.78, n.1, p.55-62, 2000.

BRENTON, M. B. et al. Hcytinuria: metabolic studies on 3 patients. **J. Pedriatic**, v.67, p.58-68, 1965.

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

BROOME, J.D.; JENG, M.W. Promotion of replication in lymphoid cells by specific thiols and disulfides in vitro. **J. Exp. Med.**, v.138, p.574-592, 1973.

BUHL, R.; JAFFE, H.A.; HOLROYD, K.J.; WELLS, F.B.; MASTRANGELI, A.; SALTINI, C.; CANTIN, A.M.; CRYSTAL, R.G. Systemic glutathione deficiency in symptom-free HIV-seropositive individuals. **Lancet**, v.2, n.8675, p.1294-1298, 1989.

BUSS, N.; DUFF, F. Protease inhibitors in HIV infection. Lipodystrophy may be a consequence of prolonged survival. **Br. Med. J.**, v.318, p.122, 1999.

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

CARR, A, SAMARAS K, BURTON S, LAW M, FREUND J, CHISHOLM DJ, AND COOPER DA. A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. **AIDS** 12: F51-F58, 1998.

CARR, A. HIV protease inhibitor-related lipodystrophy syndrome. *Clin. Infect. Dis.* V.30, suppl. 2, p.S135-142, 2000.

CARR, A.; MILLER, J.; LAW, M.; COOPER, D.A. A syndrome of lipoatrophy, lactic acidaemia and liver dysfunction associated with HIV nucleoside analogue therapy: contribution to protease inhibitor-related lipodystrophy syndrome. **AIDS**, v.14, n.3, p.F25-F32, 2000.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance case Definition for AIDS among Adolescents and Adults.** MMWR, Atlanta, 1993.

CHEN, F.; DAY, S.L.; METCALFE, R.A.; SETHI, G.; KAPEMBWA, M.S.; BROOK, M.G.; CHURCHILL, D.; DE RUITER, A.; ROBINSON, S.; LACEY, C.J.; WEETMAN, A.P. Characteristics of autoimmune thyroid disease occurring as a late complication of immune reconstitution in patients with advanced human immunodeficiency virus (HIV) disease. **Medicine**, v.84, n.2, p.98-106, 2005.

CLARKE, R.; DALY, L.; ROBINSON, K.; NAUGHTEN, E.; CAHALANE, S.; FOWLER, B.; GRAHAM, I. HiperHcyteinemia: an independent risk factor for vascular disease. **N. Engl. J. Med.**, v.324, p.1149-1155, 1991.

COHEN, J. The daunting challenge of keeping HIV suppressed. **Science**, v.277, n.5322, p.32-33, 1997.

COLE, S.B.; LANGKAMP-HENKEN, B.; BENDER, B.S.; FINDLEY, K.; HERRLINGER-GARCIA, K.A.; UPHOLD, C.R. Oxidative stress and antioxidant capacity in smoking and nonsmoking men with HIV/acquired immunodeficiency syndrome. **Nutr. Clin. Pract.**, v.20, n.6, p.662-667, 2005.

COLOSO, R.M.; DRAKE, M.R.; STIPANUK, M.H. Effect of bathocuproine disulfonate, a copper chelator, on cyst(e)ine metabolism by freshly isolated rat hepatocytes. **Am. J. Physiol.**, v.259, n.3, p.E443-E450, 1990.

CORREA, R.; DEL RIO, M.; DE LA FUENTE, M. Improvement of murine immune functions in vitro by thioproline. **Immunopharmacology**, v.44, n.3, p.281-291, 1999.

CRESENZI, C.L.; LEE, J.I.; STIPANUK, M.H. Cysteine is the metabolic signal responsible for dietary regulation of hepatic cysteine dioxygenase and glutamate

cysteine ligase in intact rats. **J. Nutr.**, v.133, n.9, p.2697-2702, 2003.

CURTHOYS, N.P.; HUGHEY, R.P. Characterization and physiological function of rat renal gamma-glutamyltranspeptidase. **Enzyme**, v.24, n.6, p.383-403, 1979.

DE LA ASUNCION, J.G.; DEL OLMO, M.L.; SASTRE, J.; MILLAN, A.; PELLIN, A.; PALLARDO, F.V.; VINA, J. AZT treatment induces molecular and ultrastructural oxidative damage to muscle mitochondria. Prevention by antioxidant vitamins. **J. Clin. Invest.**, v.102, n.1, p.4-9, 1998.

DE ROSA, S.C.; ZARETSKY, M.D.; DUBS, J.G.; ROEDERER, M.; ANDERSON, M.; GREEN, A.; MITRA, D.; WATANABE, N.; NAKAMURA, H.; TJIOE, I.; DERESINSKI, S.C.; MOORE, W.A.; ELA, S.W.; PARKS, D.; HERZENBERG, L.A.; HERZENBERG, L.A. N-acetylcysteine replenishes glutathione in HIV infection. **Eur. J. Clin. Invest.**, v.30, n.10, p.915-929, 2000.

DE SOUZA JUNIOR, O.; TREITINGER, A.; BAGGIO, G.L.; MICHELON, C.; VERDI, J.C.; CUNHA, J.; FERREIRA, S.I.; SPADA, C. Alpha-Tocopherol as an antiretroviral therapy supplement for HIV-1-infected patients for increased lymphocyte viability. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v.43, n.4, p.376-382, 2005.

DEPLANCKE, B.; GASKINS, H.R. Redox control of the transsulfuration and glutathione biosynthesis pathways. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v.5, n.1, p.85-92, 2002.

DROGE, W. Cysteine and glutathione in catabolic conditions and immunological dysfunction. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v.2, n.3, p.227-33, 1999.

DRÖGE, W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. **Physiol.**

Rev., v. 82, p. 47-95, 2002.

DROGE, W. Redox regulation in anabolic and catabolic processes. Anabolic and catabolic signals. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v.9, n.3, p.190-195, 2006.

DROGE, W.; BREITKREUTZ, R. Glutathione and immune function. **Proc. Nutr. Soc.**, v.59, n.4, p.595-600, 2000.

DROGE, W.; BREITKREUTZ, R. N-acetyl-cysteine in the therapy of HIV-positive patients. **Curr. Op. Clin. Nutr. Metab. Care**, v.2, n.6, p.493-498, 1999.

DRÖGE, W.; ECK, H.P.; GANDER, H.; MIHM, S. Modulation of lymphocyte functions and immune responses by cysteine and cysteine derivatives. **Am. J. Med.**, v.91 (suppl. 3C), p. 140S-144S, 1991.

DRÖGE, W.; GROSS, A.; HACK, V.; KINSCHERF, R.; SCHYKOWSKI, M.; BOCKSTETTE, M.; MIHM, S.; GALTER, D. Role of cysteine and glutathione in HIV infection and cancer cachexia: therapeutic intervention with N-acetylcysteine. **Adv. Pharmacol.** v.38, p.581-600, 1997.

DRÖGE, W.; HOLM, E. Role of cysteine and glutathione in HIV infection and other diseases associated with muscle wasting and immunological dysfunction. **FASEB J.**, v.11, n.13, p.1077-1089, 1997.

DRÖGE, W.; SCHULZE-OSTHOFF, K.; MIHM, S.; GALTER, D.; SCHENK, H.; ECK, H.P.; ROTH, S.; GMUNDER, H. Functions of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. **FASEB J.**, v.8, n.14, p.1131-1138, 1994.

DUBICK, M.A.; HENG, H.; RUCKER, R.B. Effects of protein deficiency and food

restriction on lung ascorbic acid and glutathione in rats exposed to ozone. **J. Nutr.**, v.115, n.8, p.1050-1056, 1985.

EHRET, A.; WESTENDORP, M.O.; HERR, J.; DEBATIN, K.M.; HEENEY, J.L.; FRANK, R.; KRAMMER, P.H. Resistance of chimpanzee T cells to human immunodeficiency virus type 1 Tat-enhanced oxidative stress and apoptosis. **J. Virol.**, vol.70, n.9, p.6502-6507, 1996.

ERCAL, N.; NAKAOKE, R.; BANKS, W.A. HIV-1 viral proteins gp120 and Tat induce oxidative stress in brain endothelial cells. **Brain Res.**, v.1045, n.1-2, p. 57-63, 2005.

EVANS, P.; HALLIWELL, B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. **Brit. J. Nutr.**, v. 85, suppl 2, p. S67-S74, 2001.

EXECUTIVE SUMMARY OF THE THIRD REPORT OF THE NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP) EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS (ADULT TREATMENT PANEL III). **JAMA.**, v.285, n.19, p.2486-2497, 2001.

FAVIER, A. Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. **Ann. Biol. Clin.**, v. 55, p. 9-16, 1997.

FAVIER, A.; SAPPY, C.; LECLERC, P.; FAURE, P.; MICOUD, M. Antioxidant status and lipid peroxidation in patients infected with HIV. **Chem. Biol. Interac.**, v. 91, p.165-180, 1994.

FAWZI, W., MSAMANGA, G.I., SPIEGELMAN, D., WEI, R., KAPIGA, S., VILLAMOR, E., MWAKAGILE, D., MUGUSI, F., HERTZMARK, E., ESSEX, M., HUNTER, D.J. A randomized trial of multivitamin supplements and HIV disease progression and mortality. **N. Engl. J. Med.**, v. 351, p. 23-32, 2004.

FENG, J.Y.; JOHNSON, A.A.; JOHNSON, K.A.; ANDERSON, K.S. Insights into the molecular mechanism of mitochondrial toxicity by AIDS drugs. **J. Biol. Chem.**, v.276, n.26, p.23832-23837, 2001.

FORD, E.S.; GILES, W.H.; DIETZ, W.H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. **JAMA.**, v.287, n.3, p.356-359, 2002.

FRANKEN, D. G. et al. Treatment of mild hyperHcyteinemia in vascular disease patients. **Arterioscler. Thromb.**, v.14, p.465-470, 1994.

FREYBURGER, G.; LABROUCHE, S.; SASSOUST, G.; ROUANET, F.; JAVORSCHI, S.; PARROT, F. Mild hyperHcyteinemia and hemostatic factors in patients with arterial vascular diseases. **Thromb. Haemost.**, v.77, n.3, p.466-471, 1997.

FUKAGAWA, N.K.; AJAMI, A.M.; YOUNG, V.R. Plasma methionine and cysteine kinetics in response to an intravenous glutathione infusion in adult humans. **Am. J. Physiol.**, v.270, n.2, p.E209-214, 1996.

FURST, P.; ALBERS, S.; STEHLE, P. Glutamine-containing dipeptides in parenteral nutrition. **J. Parenter. Enteral Nutr.**, v.14, suppl.4, p.118S-124S, 1990.

GALI, R.R.; BOARD, P.G. Identification of an essential cysteine residue in human glutathione synthase. **Biochem. J.**, v.321, p.207-210, 1997.

GARCIA-DE-LORENZO, A.; ZARAZAGA, A.; GARCIA-LUNA, P.P.; GONZALEZ-HUIX, F.; LOPEZ-MARTINEZ, J.; MIJAN, A.; QUECEDO, L.; CASIMIRO, C.; USAN, L.; DEL LLANO, J. Clinical evidence for enteral nutritional support with glutamine: a systematic review. **Nutrition**, v.19, n.9, p.805-811, 2003.

GARLICK, P.J. Assessment of the safety of glutamine and other amino acids. **J. Nutr.**, v.131, suppl. 9, p.2556S-2561S, 2001.

GHEZZI, P.; SACCARDO, B.; BIANCHI, M. Recombinant tumor necrosis factor depresses cytochrome P450-dependent microsomal drug metabolism in mice. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.136, n.1, p.316-321, 1986.

GIL L.; PEREZ D.; TAPANES R.; PEREZ J.; GRUNE T. Does mitochondrial dysfunction during antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus infection suggest antioxidant supplementation as a beneficial option? **Redox Report**. v. 10, n. 3, p. 113-9, 2005.

GRIFFITH, O.W. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. **Free Rad. Biol. Med.** v.27, n9-10, p.922-935, 1999.

GRIMBLE RF. Nutritional modulation of cytokine biology. **Nutrition**, v.14, n.7-8, p.634-640, 1998.

GRIMBLE, R.F. Immunonutrition. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, v.21, n.2, p.216-222, 2005.

GROSS, A.; HACK, V.; STAHL-HENNIG, C.; DROGE, W. Elevated hepatic

gamma-glutamylcysteine synthetase activity and abnormal sulfate levels in liver and muscle tissue may explain abnormal cysteine and glutathione levels in SIV-infected rhesus macaques. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v.12, n.17, p.1639-1641, 1996.

GROSSMAN, Z.; POLIS, M.; FEINBERG, M.B.; GROSSMAN, Z.; LEVI, I.; JANKELEVICH, S.; YARCHOAN, R.; BOON, J.; DE WOLF, F.; LANGE, J.M.; GOUDSMIT, J.; DIMITROV, D.S.; PAUL, W.E. Ongoing HIV dissemination during HAART. **Nat. Med.**, v.5, n.10, p.1099-1104, 1999.

HACK, V.; SCHMID, D.; BREITKREUTZ, R.; STAHL-HENNING, C.; DRINGS, P.; KINSCHERF, R.; TAUT, F.; HOLM, E.; DROGE, W. Cystine levels, cystine flux, and protein catabolism in cancer cachexia, HIV/SIV infection, and senescence. **FASEB J.**, v.11, n.1, p.84-92, 1997.

HAHN, B. H; SHAW, G. M; DE COCK, K. M; SHARP, P. M. AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. **Science**, v. 287, p. 607, 2000.

HALAWA, I.; BAIG, S.; QURESHI, G.A. Use of high performance liquid chromatography in defining the abnormalities in the free amino acid patterns in the cerebrospinal fluid of patients with aseptic meningitis. **Biomed. Chromatogr.**, v.5, p.216-220, 1991.

HANIGAN, M.H.; GALLAGHER, B.C.; TAYLOR, P.T.; LARGE, M.K. Inhibition of gamma-glutamyl transpeptidase activity by acivicin in vivo protects the kidney from cisplatin-induced toxicity. **Cancer Res.**, v.54, n.22, p.5925-5929, 1994.

HELBLING, B.; VON OVERBECK, J.; LAUTERBURG, B.H. Decreased release of glutathione into the systemic circulation of patients with HIV infection. **Eur. J. Clin.**

Invest., v.26, v.1, p.38-44, 1996.

HERZENBERG, L.A.; DE ROSA, S.C.; DUBS, J.G.; ROEDERER, M.; ANDERSON, M.T.; ELA, S.W.; DERESINSKI, S.C.; HERZENBERG, L.A. Glutathione deficiency is associated with impaired survival in HIV disease. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v.94, n.5, p.1967-1972, 1997.

HOLDINESS, MR. Clinical pharmacokinetics of N-acetylcysteine. *Clin Pharmacokinet.*, v.20, P.123-134, 1991.

HORNSBY-LEWIS, L.; SHIKE, M.; BROWN, P.; KLANG, M.; PEARLSTONE, D.; BRENNAN, M.F. L-glutamine supplementation in home total parenteral nutrition patients: stability, safety, and effects on intestinal absorption. **J. Parenter. Enteral Nutr.**, v.18, n.3, p.268-273, 1994.

HUNTER, E.A.; GRIMBLE, R.F. Cysteine and methionine supplementation modulate the effect of tumor necrosis factor alpha on protein synthesis, glutathione and zinc concentration of liver and lung in rats fed a low protein diet. **J Nutr.**, v.124, n.12, p.2319-2328, 1994.

HURWITZ, B.E.; KLIMAS, N.G.; LLABRE, M.M.; MAHER, K.J.; SKYLER, J.S.; BILSKER, M.S.; MCPHERSON-BAKER, S.; LAWRENCE, P.J.; LAPERRIERE, A.R.; GREESON, J.M.; KLAUS, J.R.; LAWRENCE, R.; SCHNEIDERMAN, N. HIV, metabolic syndrome X, inflammation, oxidative stress, and coronary heart disease risk : role of protease inhibitor exposure. **Cardiovasc. Toxicol.**, v.4, n.3, p.303-316, 2004.

ISHII, T.; HISHINUMA, I.; BANNAI, S.; SUGITA, Y. Mechanism of growth promotion of mouse lymphoma L21210 cells in vitro by feeder layer or 2-

mercaptoethanol. **J. Cell. Physiol.**, v.107, n.2, p.283-293, 1981.

ISOMAA, B.; ALMGREN, P.; TUOMI, T.; FORSEN, B.; LAHTI, K.; NISSEN, M.; TASKINEN, M. R.; GROOP, L: Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. **Diab. Care**, v. 24, p. 683–689, 2001.

ISRAEL, N.; GOUGEROT-POCIDALO, M.A. Oxidative stress in human immunodeficiency virus infection. **Cell. Mol. Life Sci.**, v.53, p.864-870, 1997.

JAHOR, F.; JACKSON, A.; GAZZARD, B.; PHILIPS, G.; SHARPSTONE, D.; FRAZER, M.E.; HEIRD, W. Erythrocyte glutathione deficiency in symptom-free HIV infection is associated with decreased synthesis rate. **Am. J. Physiol.**, v.276, n.1, p.E205-E211, 1999.

JARUGA, P.; JARUGA, B.; GACKOWSKI, D.; OLCZAK, A.; HALOTA, W.; PAWLOWSKA, M.; OLINSKI, R. Supplementation with antioxidant vitamins prevents oxidative modification of DNA in lymphocytes of HIV-infected patients. **Free Rad. Biol. Med.** v. 32, n. 5, p. 414-420, 2002.

KELLY, G.S. Clinical applications of N-acetylcysteine. **Altern. Med. Rev.**, v.3, n.2, p.114-127, 1998.

KINSCHERF, R.; HACK, V.; FISCHBACH, T.; FRIEDMANN, B.; WEISS, C.; EDLER, L.; BARTSCH, P.; DROGE, W. Low plasma glutamine in combination with high glutamate levels indicate risk for loss of body cell mass in healthy individuals: the effect of N-acetyl-cysteine. **J. Mol. Med.**, v.74, n.7, p.393-400, 1996.

KOMARNISKY, L. A.; CHRISTOPHERSON, R.J.; BASU, T.K. Sulfur: its clinical and toxicologic aspects. **Nutrition**, v.19, p.54-61, 2003.

KOTLER, D. P.; COLE, S. B.; LANGKAMP-HENKEN, B.; BENDER, B. S.; FINDLEY, K.; HERRLINGER-GARCIA, K. A.; UPHOLD, C. R. Oxidative stress and antioxidant capacity in smoking and nonsmoking men with HIV/acquired immunodeficiency syndrome. **Nutr. Clin. Pract.** v. 20, n. 6, p. 662-667, 2005.

KOTLER, D.P. Antioxidant therapy and HIV infection: 1998. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 67, p.7-9, 1998.

KOTLER, D.P.; ROSENBAUM, K.; WANG, J.; PIERSON, R. N. Studies of body composition and fat distribution in HIV-infected and control subjects. **J. Acquir. Immun. Def. Syndr. Hum. Retrovirol.**, v.20, n.3, p. 228-237, 1999.

KRAUSE, M.U.; MAHAN, L.K. Avaliação do estado nutricional. In: _____. **alimentos, nutrição e dietoterapia**. 7ed. São Paulo: Roca, 1991. cap.9, p.192-214.

KWON, Y. H. AND STIPANUK, M. H. Cysteine regulates expression of cysteine dioxygenase and gamma-glutamylcysteine synthetase in cultured rat hepatocytes. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v.280 p. E804–E815, 2001.

LAKKA, H.M.; LAAKSONEN, D.E.; LAKKA, T.A.; NISKANEN, L.K.; KUMPUSALO, E.; TUOMILEHTO, J.; SALONEN, J.T. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. **JAMA**, v.288, p.2709–2716, 2002.

LANG, C.A. ; HUANG, A. ; RAMIREZ, LIU, M.C. Erythrocytic glutathione and plasma cysteine status of human immunodeficient patients. **Exp. Biol. Med.**, v.226, n.9, p.866-869, 2001.

LEOW, M.K.; ADDY, C.L.; MANTZOROS, C.S. Clinical review 159: Human

immunodeficiency virus/highly active antiretroviral therapy-associated metabolic syndrome: clinical presentation, pathophysiology, and therapeutic strategies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v.88, n.5, p.1961-1976, 2003.

LO, JC, MULLIGAN K, TAI VW, ALGREN H, AND SCHAMBELAN M. Body shape changes in HIV-infected patients. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.*, v.19, p.307-308, 1998.

LOOK, M.P.; ROCHSTROH, J.K.; AO, G.S.; KREUZER, K.A.; BARTON, S.; LEMOCH, H.; SUDHOP, T.; HOCH, J.; STOCKINGER, K.; SPENGLER, U.; SAUERBRUCH, T. Serum selenium, plasma glutathione (GSH) and erythrocyte glutathione peroxidase (GSH-Px)- levels in asymptomatic versus symptomatic human immunodeficiency virus-1 (HIV-1)-infection. *Eur. J. Clin. Nutr.*, v.51, n.4, p.266-272, 1997.

LOOK, M.P.; ROCKSTROH, J.K.; RAO, G.S.; BARTON, S.; LEMOCH, H.; KAISER, R.; KUPFER, B.; SUDHOP, T.; SPENGLER, U.; SAUERBRUCH, T. Sodium selenite and N-acetylcysteine in antiretroviral-naive HIV-1-infected patients: a randomized, controlled pilot study. *Eur. J. Clin. Invest.*, v.28, n.5, p.389-397, 1998.

LU, S.C. Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. *Faseb J.*, v.13, p.1169-1183, 1999.

LYONS, J.; RAUH-PFEIFFER, A.; YU, Y.M.; LU, X.M.; ZURAKOWSKI, D.; TOMPKINS, R.G.; AJAMI, A.M.; YOUNG, V.R.; CASTILLO, L. Blood glutathione synthesis rates in healthy adults receiving a sulfur amino acid-free diet. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v.97, n.10, p.5071-5076, 2000.

MACALLAN, D.C. Abnormalities and wasting in human immunodeficiency virus infection. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 57, p. 373-380, 1998.

MALLERY, S.R.; BAILER, R.T.; HOHL, C.M.; Ng-BAUTIST, C.L.; NESS, G.M.; LINGSTON, B.E.; HOUT, B.L.; STEPHENS, R.E.; BRERLEY, G.P. Cultured AIDS-related Kaposi's Sarcoma (AIDS-KS) cells demonstrate impaired bioenergetic adaptation to oxidant challenge: implication for oxidant stress in AIDS-KS pathogenesis. **J. Cell. Biochem.**, v. 59, n.3, p.317-328, 1995.

MANSOOR, M.A.; SVARDAL, A.M.; SCHNEEDE, J.; UELAND, P.M. Dynamic relation between reduced, oxidized, and protein-bound Hcyteine and other thiol components in plasma during methionine loading in healthy men. **Clin. Chem.**, v.38, n.7, p.1316-1321, 1992a.

MANSOOR, M.A.; SVARDAL, A.M.; UELAND, P.M. Determination of the in vivo redox status of cysteine, cysteinylglycine, Hcyteine, and glutathione in human plasma. **Anal. Biochem.**, v.200, n.2, p.218-229, 1992b.

MEININGER G, HADIGAN C, RIETSCHEL P, GRINSPOON S. Body-composition measurements as predictors of glucose and insulin abnormalities in HIV-positive men. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.76, n.2, p.460-465, 2002.

MEISTER, A.; ANDERSON, M.E. Glutathione. **Ann. Rev. Biochem.**, v.52, p.711-760, 1983.

MICKE, P.; BEEH, K.M.; BUHL, R. Effects of long-term supplementation with whey proteins on plasma glutathione levels of HIV-infected patients. **Eur. J. Nutr.**, v.41, n.1, p.12-18, 2002.

MILLER, A.L. Therapeutic considerations of L-glutamine: a review of the literature. **Atern. Med. Rev.**, v.4, p.239-248, 1999.

MILLER, K. D; JONES, E.; YANOVSKI, J. A; SHANKAR, R.; FEUERSTEIN, I.; FALLOON, J. Visceral abdominal-fat accumulation associated with use of indinavir. **Lancet**, v.351, p.871-875, 1998.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico AIDS e DST - ano III - nº1**, janeiro a junho de 2006, Brasília; 2006. Disponível em URL: <http://www.aids.gov.br>
Acesso em 24 de janeiro de 2007.

MOSHAROV, E.; CRANFORD, M. R.; BANERJEE, R. **Biochem.**, v. 39, v. 42, p. 13005-13011, 2000.

MULLER, F.; SVARDAL, A.M.; NORDOY, I.; BERGE, R.K.; AUKRUST, P.; FROLAND, S.S. Virological and immunological effects of antioxidant treatment in patients with HIV infection. **Eur. J. Clin. Invest.**, v.30, n.10, p.905-914, 2000.

NAPPO. F.; DE ROSA, N.; MARFELLA, R.; DE LUCIA, D.; INGROSSO, D.; PERNA, A.F.; FARZATI, B.; GIUGLIANO, D. Impairment of endothelial functions by acute hyperHcyteinemia and reversal by antioxidant vitamins. **JAMA**, v.281, n.22, p.2113-2118, 1999.

NATHAN, C.F.; TERRY, W.D. Differential stimulation of murine lymphoma growth in vitro by normal and BCG-activated macrophages. **J. Exp. Med.**, v. 142, n.4, p.887-902, 1975.

NIELSEN, F.; MIKKELSEN, B.B.; NIELSEN, J.B.; ANDERSEN, H.R.; GRANDJEAN, P. Plasma malondialdeyde as biomarker for oxidative stress:

reference interval and effects of life-style factors. **Clin. Chem.**, Washington, v.43, n.7, p.1209-1214, 1997.

NINOMIYA, J.K.; L'ITALIEN, G.; CRIQUI, M.H.; WHYTE, J.L.; GAMST, A.; CHEN, R.S. Association of the metabolic syndrome with history of myocardial infarction and stroke in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Circulation**, v.109, p.42-46, 2004.

NOVAK, F.; HEYLAND, D.K.; AVENELL, A.; DROVER, J.W.; SU, X. Glutamine supplementation in serious illness: a systematic review of the evidence. **Crit. Care Med.**, v.30, n.9, p.2022-2229, 2002.

NOYER, C.M.; SIMON, D.; BORCZUK, A.; BRANDT, L.J.; LEE, M.J.; NEHRA, V. A double-blind placebo-controlled pilot study of glutamine therapy for abnormal intestinal permeability in patients with AIDS. **Am. J. Gastroenterol.**, v.93, n.6, p.972-975, 1998.

OBEID, O.A.; JOHNSTON, K.; EMERY, P.W. Plasma taurine and cysteine levels following an oral methionine load: relationship with coronary heart disease. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v.58, n.1, p.105-109, 2004.

OLIVIER, R. Flow cytometry technique for assessing effects of N-acetylcysteine on apoptosis and cell viability of human immunodeficiency virus-infected lymphocytes. **Methods. Enzymol.**, v.251, p.270-278, 1995.

PARCELL, S. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. **Altern. Med. Rev.**, v.7, n.1, p.22-44, 2002.

PARONI, R.; DE VECCHI, E.; CIGHETTI, G.; ARCELLONI, C.; FERMO, I.; GROSSI, A.; BONINI, P. HPLC with o-phthalaldehyde precolumn derivatization to

measure total, oxidized, and protein-bound glutathione in blood, plasma, and tissue. **Clin. Chem.**, v.41, n.3, p.448-454, 1995.

PATRICK L. Nutrients and HIV: part three - N-acetylcysteine, alpha-lipoic acid, L-glutamine, and L-carnitine. **Altern. Med. Rev.**, v.5, n.4, p.290-305, 2000.

PEACOCK, M.D.; SCHENK, D.A.; LAWRENCE, R.A.; MORGAN, J.A.; JENKINSON, S.G. Elimination of glutathione-induced protection from hyperbaric hyperoxia by acivicin. **J. Appl. Physiol.**, v.76, n.3, p.1279-1284, 1994.

PEAKE, J.; SUZUKI, K. Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. **Exerc. Immunol. Rev.**, v.10, p.129-141, 2004.

PITTS, O.M. Com A cytotoxicity: a model for the study of key signaling steps leading to lymphocyte apoptosis in AIDS? **Med. Hypothesis**, v.45, n.3, p.311-315, 1995.

QURESHI, G. A.; FOHLIN, L.; BERGSTRÖM, J. Application of high performance liquid chromatography to the determination of free amino acids in physiological fluids. **J. Chromatogr.**, v.297, p.91-100, 1984.

RAIJMAKERS, M.T.; SCHILDERS, G.W.; ROES, E.M.; VAN TITS, L.J.; HAK-LEMMERS, H.L.; STEEGERS, E.A.; PETERS, W.H. N-Acetylcysteine improves the disturbed thiol redox balance after methionine loading. **Clin. Sci.**, v.105, n.2, p.173-180, 2003.

RAJU, P.A.; HERZENBERG, L.A.; HERZENBERG, L.A.; ROEDERER, M. Glutathione precursor and antioxidant activities of N-acetylcysteine and oxothiazolidine carboxylate compared in in vitro studies of HIV replication. **AIDS**.

Res. Hum. Retroviruses. v.10, n.8, p.961-7, 1994.

REFSUM, H. et al. Hcyteine and cardiovascular disease. **Annu. Rev. Med.**, v.49, p.31-62, 1998.

REPETTO, M.; REIDES, C.; GOMEZ-CARRETERO, M.L.; COSTA, M.; GYIEMBERG, G.; LLESNY, S. Oxidative stress in blood of HIV infected patients. **Clin. Chim. Acta**, Amsterdam, v.255, n.2, p.107-117, 1996.

ROBINSON, P. Body composition changes in patients with HIV. Risk of cardiovascular disease and metabolic abnormalities are possible. **Am. J. Nurs.**, v.105, n.12, p.69-72, 2005.

ROEDERER, M.; ELA, S.W.; STAAL, F.J.; HERZENBERG, L.A; HERZENBERG, L.A. N-acetylcysteine: a new approach to anti-HIV therapy. **AIDS. Res. Hum. Retroviruses**, v.8, n.2, p.209-217, 1992.

ROEDERER, M.; STAAL, F.J.; ELA, S.W.; HERZENBERG, L.A.; HERZENBERG, L.A. N-acetylcysteine: potential for AIDS therapy. **Pharmacology**, v.46, n.3, p.121-129, 1993.

RUDORF, D.C.; KRIKORIAN, S.A. Adverse effects associated with antiretroviral therapy and potential management strategies. **J. Pharm. Pract.**, v.18, n.4, p.258-277, 2005.

SAVES M, CHENE G, DUCIMETIERE P, LEPORT C, LE MOAL G, AMOUYEL P, ARVEILER D, RUIDAVETS JB, REYNES J, BINGHAM A, RAFFI F. The French WHO MONICA Project and the APROCO (ANRS EP11) Study Group: Risk factors for coronary heart disease in patients treated for human immunodeficiency virus

infection compared with the general population. **Clin. Infect. Dis.**, v.37, p.292–298, 2003.

SCHRECK, R.; RIEBER, P.; BAEUERLE, P.A. Reactive intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF- κ B transcription factor and HIV-1. **EMBO J.**, v.10, p.2247-2258, 1991.

SCHWARZ, K.B. Oxidative stress during viral infection: a review. **Free Radic. Biol. Med.**, v.21, n.5, p.641-649, 1996.

SEKHAR, R.V.; JAHOOOR, F.; WHITE, A.C.; POWNALL, H.J.; VISNEGARWALA, F.; RODRIGUEZ-BARRADAS, M.C.; SHARMA, M.; REEDS, P.J.; BALASUBRAMANYAM, A. Metabolic basis of HIV-lipodystrophy syndrome. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v.283, n.2, p.E332-E337, 2002.

SELHUB, J.; MILLER, J.W. The pathogenesis of Hcyteinemia: interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of Hcyteine. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.55, n.1, p.131-138, 1992.

SEN, C. K.; PACKER, L. Thiol homeostasis and supplements physical exercise. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.72, supp.1, p.653S-666S, 2000.

SHABERT, J.K.; WILMORE, D.W. Glutamine deficiency as a cause of human immunodeficiency virus wasting. **Med. Hypotheses**, v.46, n.3, p.252-6, 1996.

SHABERT, J.K.; WINSLOW, C.; LACEY, J.M.; WILMORE, D.W. Glutamine-antioxidant supplementation increases body cell mass in AIDS patients with weight loss: a randomized, double-blind controlled trial. **Nutrition**, v.15, n.11-12, p.860-864, 1999.

SIES, H. Glutathione and its role in cellular functions. **Free Rad. Biol. Med.**, v.27, n.9/10, p.916-921, 1999.

SINGHAL, N.; AUSTIN, J. A clinical review of micronutrients in HIV infection. **J. Int. Assoc. Physicians AIDS Care**, v.1, n.2, p.63-75, 2002.

SLEASMAN, J.W.; GOODENOW, M.M. 13. HIV-1 infection. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v.111, suppl. 2, p.S582-592, 2003.

SMITH, S.; BROWN-GALATOLA, C.H.; HALL, N.D. Modulation of human T cell functions by superface sulphydryl groups: differential effects on IL-2 production and responsiveness. **Clin. Exp. Immunol.**, v.88, p.169-173, 1992.

SOETERS, P.B.; VAN DE POLL, M.C.; VAN GEMERT, W.G.; DEJONG, C.H. Amino acid adequacy in pathophysiological states. **J. Nutr.**, v.134, suppl. 6, p.1575S-1582S, 2004.

SOUZA JUNIOR, Odilon de; TREITINGER, Arício; BAGGIO, G. L. ; MICHELON, Cleonice ; VERDI, Júlio Cesar ; CUNHA, Joel ; FERREIRA, Silvia I A C P ; SPADA, Celso . Alpha-tocopherol as an antiretroviral therapy supplement for HIV-1-infected patients for increased lymphocyte viability. **Clin. Chem. Lab. Med.**, Berlin, v. 43, n. 4, p. 376-382, 2005.

SPADA, C.; TREITINGER, A.; REIS, M.; MASOKAWA, I.Y.; VERDI, J.C.; LUIZ, M.C.; SILVEIRA, M.V.; MICHELON, C.M.; AVILA-JUNIOR, S.; GIL, D.O.; OSTROWSKY, S. The effect of N-acetylcysteine supplementation upon viral load, CD4, CD8, total lymphocyte count and hematocrit in individuals undergoing antiretroviral treatment. **Clin. Chem. Lab. Med.**, v.40, n.5, p.452-455, 2002.

STAAL, F.J. Antioxidant therapy for AIDS. **Eur. J. Clin. Invest.**, v. 30, n.10, p.841-842, 2000.

STAAL, F.J.; ANDERSON, M.T.; STAAL, G.E.; HERZENBERG, L.A.; GITLER, C.; HERZENBERG, L.A. Redox regulation of signal transduction: tyrosine phosphorylation and calcium influx. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.91, n.9, p.3619-3622, 1994.

STAAL, F.J.; ROEDERER, M.; ISRAELSKI, D.M.; BUBP, J.; MOLE, L.A.; MCSHANE, D.; DERESINSKI, S.C.; ROSS, W.; SUSSMAN, H.; RAJU, P.A.; et al. Intracellular glutathione levels in T cell subsets decrease in HIV-infected individuals. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v.8, n.2, p.305-311, 1992.

STAPLETON, P.P.; O'FLAHERTY, L.; REDMOND, H.P.; BOUCHIER-HAYES, D.J. Host defense--a role for the amino acid taurine? **J. Parenter. Enteral. Nutr.**, v22, n.1, p.42-48, 1998.

STEBBENS, W.E. Oxidative stress in viral hepatitis and AIDS. **Exp. Mol. Pathol.**, v.77, n. 2, p. 121, 2004.

STIPANUK, M. H. Role of the liver in regulation of body cysteine and taurine levels: a brief review. **Neurochem. Res.**, v.29, n.1, p.105-110, 2004a.

STIPANUK, M. H., LONDONO, M., LEE, J. I., HU, M., YU, A. F. Enzymes and metabolites of cysteine metabolism in nonhepatic tissues of rats show little response to changes in dietary protein or sulfur amino acid levels. **J. Nutr.**, v. 132, p. 3369-3378, 2002.

STIPANUK, M.H. Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and

removal of Hcyteine and cysteine. **Annu. Rev. Nutr.**, v.24, p.539-577, 2004b.

STIPANUK, M.H.; COLOSO, R.M.; GARCIA, R.A.; BANKS, M.F. Cysteine concentration regulates cysteine metabolism to glutathione, sulfate and taurine in rat hepatocytes. **J. Nutr.**, v.122, n.3, p.420-427, 1992.

SULIMAN, M.E.; FILHO, J.C.; BARANY, P.; ANDERSTAM, B.; LINDHOLM, B.; BERGSTROM, J. Effects of methionine loading on plasma and erythrocyte sulphur amino acids and sulph-hydryls before and after co-factor supplementation in haemodialysis patients. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v.16, n.1, p.102-110, 2001.

SVARDAL, A.M.; MANSOOR, M.A.; UELAND, P.M. Determination of reduced, oxidized, and protein-bound glutathione in human plasma with precolumn derivatization with monobromobimane and liquid chromatography. **Anal. Biochem.**, v.184, n.2, p.338-346, 1990.

TAI, M.M. A mathematical model for the determination of total area under glucose tolerance and other metabolic curves. **Diabetes Care**, v.17, n.12, p.152-154, 1994.

TANG, A.M. SMIT, E. SEMBA, R.D. SHAH, N. LYLES, C.M. LI, D. VLAHOV, D. Improved antioxidant status among HIV – infected injecting drug users on potent antiretroviral therapy. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, New York, v.23, n.4, p.321-326, 2000.

TANG, A.M.; LANZILLOTTI, J.; HENDRICKS, K.; GERRIOR, J.; GHOSH, M.; WoODS, M.; WANKE, C. Micronutrients: current issues for HIV care providers. **AIDS**, v.19, n.9, p.847-861, 2005.

TAPPAZ, M.L. Taurine biosynthetic enzymes and taurine transporter: molecular

identification and regulations. **Neurochem. Res.**, v.29, n.1, p.83-96, 2004.

TATEISHI, N.; HIGASHI, T.; NARUSE, A.; HIKITA, K.; SAKAMOTO, Y. Relative contributions of sulfur atoms of dietary cysteine and methionine to rat liver glutathione and proteins. **J. Biochem.**, v.90, n.6, p.1603-1610, 1981.

The Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (DAD) Study Group: Combination antiretroviral therapy and risk of myocardial infarction. **N. Engl. J. Med.**, v.349, p.1993–2003, 2003.

TREITINGER, A.; SPADA, C.; MASOKAWA, I.Y.; VERDI, J.C.; VAN DER SANDER SILVEIRA, M.; LUIS, M.C.; REIS, M.; FERREIRA, S.I.; ABDALLA, D.S. Effect of N-acetyl-L-cysteine on lymphocyte apoptosis, lymphocyte viability, TNF- α and IL-8 in HIV-infected patients undergoing anti-retroviral treatment. **Braz. J. Infect. Dis.**, v.8, n.5, 2004.

TRINDADE, E. B. S. M. **Avaliação da flora intestinal e do estado nutricional de indivíduos infectados pelo HIV suplementados com prebiótico e probiótico.** 2004. 97p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Botucatu, São Paulo.

UBBINK, J. B.; VERMAAK, W.J.H.; BISSBORT, S. Rapid high-performance liquid chromatographic assay for total Hcyteine levels in human serum. **J. Chromatogr. Biomed. Appl.**, Amsterdam, v.565, p.441-446, 1991.

UBBINK, J.B.; DELPORT, R.; VERMAAK, W.J. Plasma Hcyteine concentrations in a population with a low coronary heart disease prevalence. **J. Nutr.**, v.126, suppl.4, p.1254S-1257S, 1996.

UELAND, P. M.; REFSUM, H. Plasma Hcyteine, a risk factor for vascular disease:

plasma levels in health, disease, and drug therapy. **J. Lab. Clin. Med.**, v.144, p.473-501, 1989.

UNAIDS: UNITED NATIONS JOINT PROGRAMME ON AIDS, WoRLD HEALTH ORGANIZATION. **Aids epidemic update: dez 2004**, Geneva; 2004. Disponível em <[URL:http://www.unaids.org](http://www.unaids.org)>. Acesso em 15 de fevereiro de 2005.

VAN GULDENER, C.; KULIK, W.; BERGER, R.; DIJKSTRA, D.A.; JAKOBS, C.; REIJNGOUD, D.J.; DONKER, A.J.; STEHOUWER, C.D.; DE MEER, K. Hcyteine and methionine metabolism in ESRD: A stable isotope study. **Kidney Int.**, v.56, n.3, p.1064-1071, 1999.

VERHOEF, P.; KOK, F.J.; KRUYSEN, D.A.; SCHOUTEN, E.G.; WITTEMAN, J.C.; GROBBEE, D.E.; UELAND, P.M.; REFSUM, H. Plasma total Hcyteine, B vitamins, and risk of coronary atherosclerosis. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.17, n.5, p.989-995, 1997.

VIGOUROUX, C.; GHARAKHANIAN, S.; SALHI, Y.; NGUYEN, T.H.; ADDA, N.; ROZENBAUM, W.; CAPEAU, J. Adverse metabolic disorders during highly active antiretroviral treatments (HAART) of HIV disease. **Diabetes Metab.**, v.25, n.5, p.383-392, 1999.

VIRABEN, R.; AQUILINA, C. Indinavir-associated lipodystrophy. **AIDS**, v.12, p.F37-F39, 1998.

WALMSLEY, S.L.; WINN, L.M.; VETRECHT, J.P.; WELLS, P.G. Oxidative stress and thiol depletion in plasma and peripheral blood lymphocytes from HIV-infected patients: toxicological and pathological implications. **AIDS**, v.11, n.4, p.1689-1697, 1997.

WATSON, R.R. Murine AIDS studies define antioxidant deficiency mechanisms. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.68, n.2, p.402, 1998.

WESSNER, B.; STRASSER, E.M.; SPITTLER, A.; ROTH, E. Effect of single and combined supply of glutamine, glycine, N-acetylcysteine, and R,S-alpha-lipoic acid on glutathione content of myelomonocytic cells. **Clin. Nutr.**, v.22, n.6, p.515-522, 2003.

YAMAGUCHI, T.; KATOH, I.; KURATA, S. Azidothymidine causes functional and structural destruction of mitochondria, glutathione deficiency and HIV-1 promoter sensitization. **Eur. J. Biochem.**, v.269, n.11, p.2782-2788, 2002.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice - Hall, 1996. 718p.

ZMUDA, J.; FRIEDENSON, B. Changes in intracellular glutathione levels in stimulated and unstimulated lymphocytes in the presence of 2-mercaptoethanol or cysteine. **J. Immunol.**, v.130, n.1, p.362-364, 1983.