

## Suplementação de N-acetilcisteína em pacientes infectados pelo HIV submetidos ao primeiro tratamento anti-retroviral: Avaliação do efeito sobre a carga viral, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, $\beta_2$ -microglobulina, IgA, IgG e IgM, haptoglobina e $\alpha_1$ -glicoproteína ácida

Arício Treitinger\*<sup>1</sup>, Macellus Reis<sup>1</sup>, Ivete Yoshiko Masokawa<sup>2</sup>, Julio Cesar Vidal Verdi<sup>3</sup>, Magali Chaves Luiz<sup>2</sup>, Marietta Vander Sander Silveira<sup>3</sup>, Stefani Ostroski<sup>1</sup>, Marcia Terezinha Voltato Siqueira<sup>1</sup>, Juçara Deitor Bernardini<sup>1</sup>, Celso Spada<sup>1</sup>, Dulcinéia Saes Parra Abdalla<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Análises Clínicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, <sup>2</sup> Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias, Hospital Nereu Ramos, <sup>3</sup> Ambulatório de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS, Posto de Saúde II, Secretaria da Saúde do Município de Florianópolis, <sup>4</sup> Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo

*Indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV-1) apresentam aumento progressivo da carga viral, da destruição do sistema de defesa imune celular e alterações imunológicas e inflamatórias, incluindo a elevação dos níveis séricos do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 8 (IL-8),  $\beta_2$ -microglobulina, IgA, IgG e IgM, haptoglobina e  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida. O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis séricos destes marcadores em indivíduos submetidos ao primeiro tratamento anti-retroviral, suplementados ou não com N-acetilcisteína. Participaram deste estudo, duplo cego controlado por placebo, que teve a duração de 180 dias, 24 indivíduos que iniciaram a terapia antiretroviral. O Grupo Estudo foi constituído por 11 indivíduos, que receberam suplementação de 600 mg/dia de N-acetilcisteína enquanto o Grupo Controle foi constituído por 13 indivíduos que receberam placebo. Os níveis dos marcadores avaliados foram determinados no dia anterior ao início do tratamento a que foram submetidos e após 60, 120 e 180 dias. Verificou-se diminuição significativa dos níveis de TNF- $\alpha$  ( $p=0,0001$ ), IL-6 ( $p>0,05$ ), IL-8 ( $p=0,0001$ ),  $\beta_2$ -microglobulina ( $p=0,0005$ ), IgA ( $p=0,007$ ), IgG ( $p=0,001$ ), IgM ( $p=0,0001$ ), haptoglobina ( $p=0,0001$ ) e  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida ( $p=0,012$ ) em decorrência do tratamento anti-retroviral. A suplementação com N-acetilcisteína, na dose utilizada neste estudo, não teve efeitos aditivos ou sinérgicos sobre as variáveis analisadas. Em conclusão, a suplementação de pacientes HIV-positivos com 600 mg/dia de N-acetilcisteína não proporcionou benefícios adicionais àqueles decorrentes do tratamento anti-retroviral.*

### Unitermos:

- AIDS
- N-acetilcisteína
- Glutathione
- Interleucinas

### \*Correspondência:

A. Treitinger  
Departamento de Análises Clínicas  
Centro de Ciências da Saúde  
Universidade Federal de Santa  
Catarina  
Campus Universitário – Trindade  
88040-970 - Florianópolis, SC.  
E-mail: aricio@ccs.ufsc.br

## INTRODUÇÃO

Na infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV-1), verifica-se desequilíbrio entre pró-oxidantes e antioxidantes, bem como alterações nos níveis séricos de diferentes citocinas. Estas alterações têm como resultado o estresse oxidativo crônico e a ativação imunológica (Pace, Leaf, 1995). Presume-se que a ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) e o conseqüente aumento progressivo da replicação do HIV são decorrentes dos distúrbios pró-inflamatórios e pró-oxidantes, os quais são, em parte, atribuídos aos elevados níveis séricos do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) (Schreck *et al.*, 1991). O estado crônico e progressivo de ativação imunocelular, que caracteriza a infecção pelo HIV, parece ser o principal mecanismo responsável pela morte prematura de linfócitos em conseqüência da diminuição da expressão da proteína Bcl-2, aumento da expressão de Bax e alterações nos níveis de citocinas como o TNF- $\alpha$  (Saikumar *et al.*, 1999), além de ser fundamental para que as células linfóides possam tornar-se eficientemente infectadas pelo HIV.

A deficiência de glutathiona, um tripeptídeo intracelular, encontrado em concentrações milimolares em todas as células, constituindo-se na principal defesa intracelular contra o estresse oxidativo (Dröge *et al.*, 1994), está relacionada com processos moleculares que têm como conseqüência a ativação do NF- $\kappa$ B (Mihm *et al.*, 1991), o aumento da replicação do HIV (Mihm *et al.*, 1991), alterações funcionais de células T (Walmsley *et al.*, 1997) e a depressão do sistema imunológico em conseqüência da morte celular induzida pelo TNF- $\alpha$  (Fernandez *et al.*, 1995). As concentrações séricas de cisteína e de glutathiona estão significativamente reduzidas em pacientes infectados pelo HIV-1 (Staal *et al.*, 1992; Walmsley *et al.*, 1997). A diminuição destes tióis tem sido associada à diminuição da sobrevida dos pacientes infectados pelo HIV (Herzenberg *et al.*, 1997). Estudos *in vitro* demonstraram que a adição de *N*-acetilcisteína (NAC) à cultura de células resulta na redução da replicação do HIV (Fernandez *et al.*, 1995; Staal *et al.*, 1993; Roederer *et al.*, 1990; Simon *et al.*, 1994) e na proliferação de células T (Eylar *et al.*, 1993). Em pacientes infectados pelo HIV, a NAC também promoveu a diminuição nos níveis de TNF- $\alpha$  (Åkerlund *et al.*, 1996).

Pacientes infectados pelo HIV apresentam, após a infecção aguda, aumento progressivo dos níveis plasmáticos de RNA viral e da destruição do sistema de defesa imune celular, com diminuição do número de linfócitos CD<sub>4</sub> (Sabin *et al.*, 2000), além de alterações nos marcadores da ativação imunocelular e da atividade infla-

matória, caracterizadas pela elevação dos níveis séricos de (TNF- $\alpha$ ), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8),  $\beta_2$ -microglobulina, IgA, IgG, IgM, haptoglobina e  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida (Lane *et al.*, 1983; Monet *et al.*, 1991; Schluger *et al.*, 1997; Fahey, 1998).

Este estudo duplo cego, controlado com placebo, foi realizado com pacientes que iniciaram o seu primeiro tratamento anti-retroviral, sendo que um subgrupo destes pacientes foi suplementado com 600 mg/dia de *N*-acetilcisteína. Avaliou-se a ativação imunocelular e os marcadores pró-inflamatórios, por meio da determinação dos níveis séricos de TNF- $\alpha$ , IL-8,  $\beta_2$ -microglobulina, IgA, IgG, IgM, haptoglobina e  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida, antes do início (basal) e aos 60, 120 e 180 dias de tratamento anti-retroviral, associado ou não à NAC, comparando-se os níveis séricos destes marcadores e o número de cópias de RNA do HIV entre os grupos estudo (suplementado com NAC) e controle (não suplementado).

## MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e quatro pacientes assintomáticos soropositivos para o HIV-1, com número de linfócitos CD<sub>4</sub> entre 85 e 639/mm<sup>3</sup>, que iniciaram o seu primeiro tratamento anti-retroviral, no ambulatório do Hospital Nereu Ramos e no ambulatório de DST/AIDS do Centro de Saúde II (Florianópolis, Santa Catarina, Brasil), classificados nos estágios A e B conforme critério do *Centers for Disease Control* (Centers for Diseases Control, 1992), participaram deste estudo duplo cego controlado por placebo, que teve a duração de 6 meses. Treze pacientes constituíram o Grupo Controle, que recebeu a medicação anti-retroviral + placebo e 11 pacientes constituíram o Grupo Estudo, que recebeu a medicação anti-retroviral + 600 mg/dia de NAC, fornecido pela Zambon Laboratórios Farmacêuticos Ltda, São Paulo, Brasil. Amostras de sangue foram colhidas no dia imediatamente anterior àquele em que foi iniciado o tratamento anti-retroviral e aos 60, 120 e 180 dias de tratamento. Os pacientes do Grupo Controle foram submetidos ao tratamento anti-retroviral com: dois inibidores nucleosídicos e um inibidor não-nucleosídico da transcriptase reversa (10), dois inibidores nucleosídicos da transcriptase reversa (2) e dois inibidores nucleosídicos e um inibidor da protease (1). Os pacientes do Grupo Estudo foram submetidos ao tratamento anti-retroviral com: dois inibidores nucleosídicos e um inibidor não-nucleosídico da transcriptase reversa (9), dois inibidores nucleosídicos da transcriptase reversa (1) e dois inibidores nucleosídicos e um inibidor da protease (1) (Tabela 1). Doze voluntários soronegativos para o HIV, triados no ambulatório do Hospital Nereu Ramos, constituíram um

grupo controle para a comparação dos níveis séricos de cisteína e glutatona ao dos grupos estudo.

**TABELA I** - Protocolos dos tratamentos anti-retrovirais a que foram submetidos os pacientes durante o estudo

Tratamento anti-retroviral	Grupo Controle n	Grupo Estudo n
AZT + 3TC + NVP	8	5
AZT + ddI + NVP	2	4
AZT + NVP	2	-
AZT + 3TC	-	1
AZT + 3TC + IDV	1	-
ddI + 3TC + NFV	-	1

n = número de pacientes; AZT = zidovudina; 3TC = lamivudina; NVP = nevirapina; ddI = didanosina; IDV = indinavir; NFV = nelfinavir

### Carga Viral

A quantificação de RNA do HIV-1 foi realizada por meio do teste NucliSens HIV-1 QT, baseado na tecnologia NASBA (*nucleic acid sequence-based amplification*) produzido pela Organon Teknika BV, Boxtel, NL.

### Determinação das citocinas

Os níveis séricos de TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-8 foram determinados por meio de ensaio enzimático imunométrico quimioluminescente de fase sólida, utilizando conjuntos reativos IMMULITE<sup>®</sup>, produzidos pela DPC<sup>®</sup> (*Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, U.S.A.*).

### Determinação da $\beta_2$ -microglobulina

Os níveis séricos de  $\beta_2$ -microglobulina foram determinados pelo de ensaio enzimático imunométrico quimioluminescente de fase sólida, utilizando conjuntos reativos IMMULITE<sup>®</sup> Beta-2 Microglobulin, produzidos pela DPC<sup>®</sup> (*Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, U.S.A.*).

### Determinação de $\alpha_1$ -glicoproteína ácida, haptoglobina, IgG, IgA e IgM

Os níveis séricos de  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida, haptoglobina, IgG, IgA e IgM foram determinados por nefelometria, utilizando antissoros específicos produzidos pela Beckman Instruments Inc. USA.

### Determinação de cisteína e glutatona

Os níveis séricos de cisteína e glutatona foram determinados por eletroforese capilar, conforme descrito por Vecchione *et al.* (1999), por meio do sistema de eletroforese capilar Biofocus<sup>®</sup> (Bio Rad Laboratories Incorporation, Califórnia, USA).

### Análise estatística

Os resultados foram analisados utilizando-se o modelo estatístico da análise de variância multivariada de medidas repetidas por meio dos testes Wilks' Lambda, Pillai's Trace, Hotelling-Lawley Trace e Roy's Greatest Root. Para todos os testes foi utilizado o programa SPSS 10.0. Diferenças indicadas por  $p < 0,05$  foram consideradas estatisticamente significantes.

## RESULTADOS

### Carga Viral

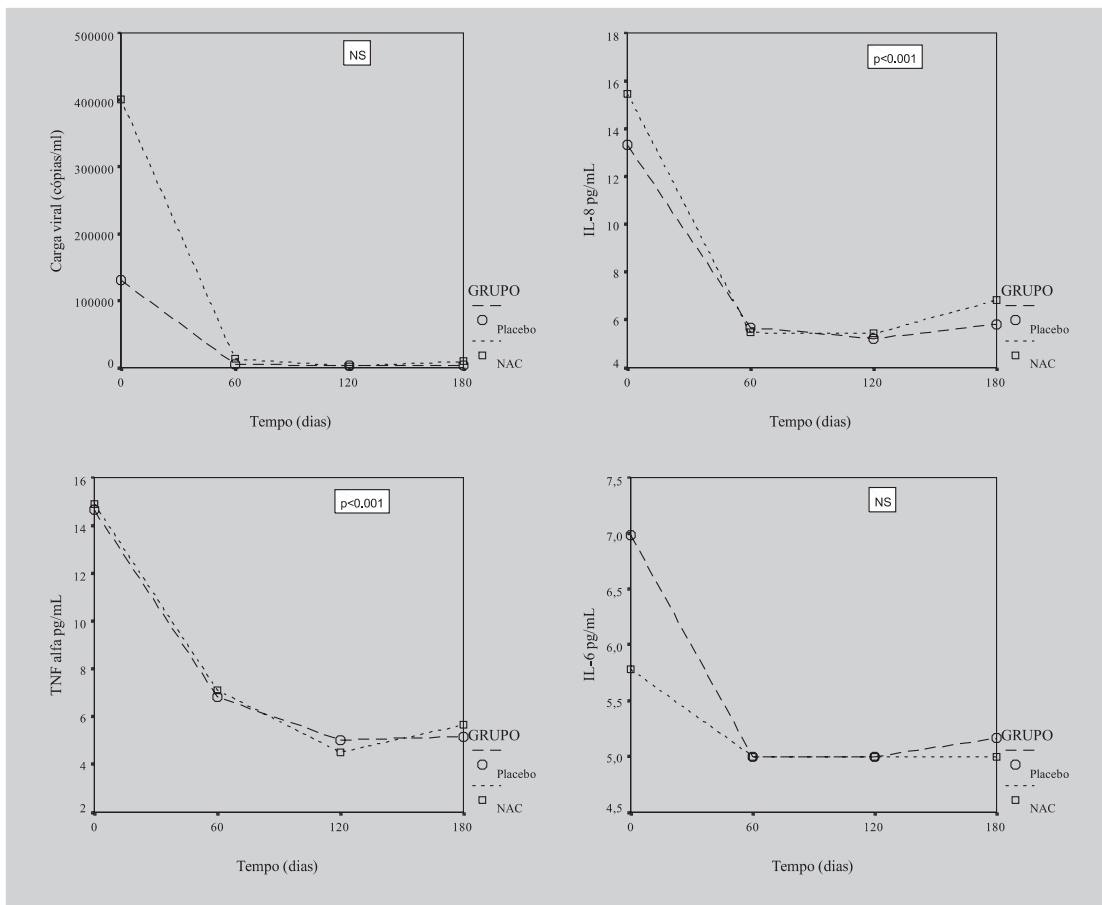
A Figura 1 mostra que a média dos níveis plasmáticos de RNA do HIV nos pacientes dos Grupos Controle e Estudo apresentaram maior diminuição após 120 dias de tratamento anti-retroviral, nos dois grupos estudados, e mostraram elevação entre 120 e 180 dias de tratamento. Não houve diferença estatística entre os grupos.

### Citocinas

A variação dos níveis séricos de TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-8 são apresentadas na Figura 1. Os níveis séricos de TNF- $\alpha$  e IL-8 apresentaram diminuição significativa em consequência do tratamento anti-retroviral. A diminuição foi maior após 120 dias de tratamento, acompanhando a diminuição da carga viral. A IL-6 não mostrou variação significativa em consequência do tratamento anti-retroviral. É importante ressaltar que apenas três pacientes do Grupo Controle e quatro pacientes do grupo suplementado com NAC apresentaram níveis séricos acima do limite de 5,0 pg/mL de soro.

### $\alpha_1$ -Glicoproteína ácida e haptoglobina

A variação dos níveis séricos de  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida e haptoglobina apresentou diminuição significativa durante o tratamento anti-retroviral. No Grupo Controle, a maior diminuição foi observada após 120 dias de tratamento, enquanto no Grupo Estudo a diminuição foi maior após 180 de tratamento. Entretanto, não se verificou diferença em decorrência da suplementação de 600 mg/dia

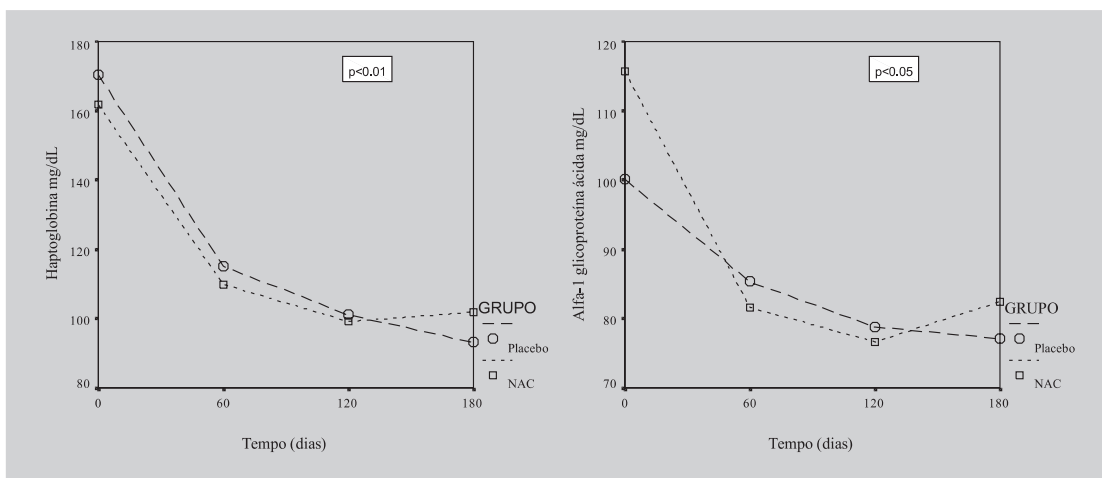


**FIGURA 1** - Níveis de RNA do HIV, TNF-alfa, IL-8 e IL6, nos pacientes portadores do HIV sob terapia anti-retroviral, dos grupos controle e estudo.

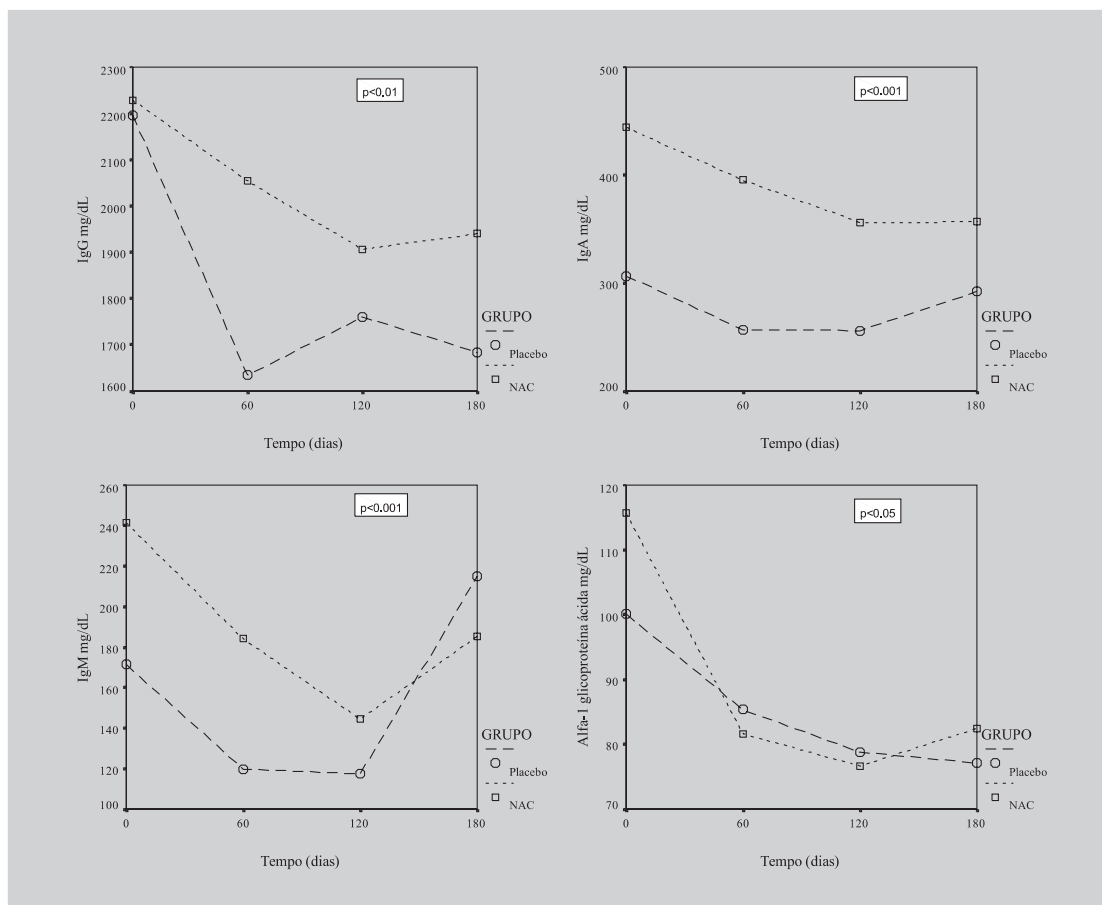
de NAC, quando os resultados dos parâmetros analisados foram comparados com aqueles do grupo que recebeu placebo (Figura 2).

**IgG, IgA, IgM e β<sub>2</sub>-microglobulina**

A Figura 3 mostra as variações dos níveis séricos de



**FIGURA 2** - Níveis séricos de haptoglobina e α<sub>1</sub>-glicoproteína ácida e IL6, nos pacientes portadores do HIV sob terapia anti-retroviral, dos grupos controle e estudo.



**FIGURA 3** - Níveis séricos de IgG, IgA, IgM e  $\beta_2$ -microglobulina, nos pacientes portadores do HIV sob terapia anti-retroviral, dos grupos controle e estudo.

IgG, IgA, IgM e  $\beta_2$ -microglobulina. Os níveis séricos destas proteínas apresentaram diminuição significativa durante o estudo. A IgA e a IgM apresentaram maior diminuição após 120 dias de tratamento nos dois grupos estudados, enquanto a  $\beta_2$ -microglobulina apresentou maior diminuição após 180 dias de tratamento. No grupo que recebeu placebo, a IgG apresentou maior diminuição após 60 dias de tratamento, enquanto no grupo suplementado com NAC a diminuição foi maior após 120 dias de tratamento.

### Cisteína e glutatona

Os níveis séricos de cisteína e glutatona apresentaram aumentos significativos nos dois grupos estudados. O Grupo Estudo apresentou aumento médio superior ao do Grupo Controle. No entanto, após 180 dias de tratamento, os níveis séricos de cisteína e glutatona dos dois grupos apresentaram-se, ainda, significativamente inferiores àqueles verificados em indivíduos soronegativos para o HIV (Tabelas 2 e 3).

### DISCUSSÃO

Neste estudo duplo cego, controlado por placebo, avaliou-se o efeito da suplementação com 600 mg/dia de N-acetilcisteína em pacientes submetidos ao primeiro tratamento anti-retroviral, comparando-se os níveis plasmáticos de RNA do HIV-1 e os níveis séricos de marcadores da ativação celular e do processo inflamatório. Os resultados deste estudo mostram que os pacientes apresentaram elevados níveis séricos basais de RNA do HIV-1, TNF- $\alpha$ , IL-8,  $\beta_2$ -microglobulina, IgG, IgA, IgM, haptoglobina e  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida. Os níveis séricos basais elevados dos marcadores estudados refletem o grau de ativação policlonal dos linfócitos B (Fauci, 1996; Amadori, Chiecobianchi, 1990; Verhofstede *et al.*, 1994) a ativação de macrófagos (Fauci, 1996) e o grau de disfunção de linfócitos T *helper* (Clerici, Shearer, 1994). Após o início do tratamento, os dois grupos estudados apresentaram, além da redução dos níveis plasmáticos de RNA do HIV, diminuição significativa dos níveis séricos de TNF- $\alpha$ , IL-8,

**TABELA II** - Níveis séricos de cisteína ( $\mu\text{M}$ ) nos pacientes portadores do HIV sob terapia anti-retroviral, dos grupos controle, estudo e em indivíduos soronegativos para o HIV

TEMPO (dias)	Grupo Controle n=16		Grupo Estudo n=14		HIV negativo n=12	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
0	87,28 <sup>a</sup>	31,06	77,71 <sup>a</sup>	24,89	209,76*	39,17
60	90,78 <sup>a</sup>	33,39	95,27 <sup>b</sup>	28,90	-	-
120	103,67 <sup>b</sup>	31,69	104,07 <sup>c</sup>	34,73	-	-
180	105,97 <sup>b</sup>	32,35	112,73 <sup>d</sup>	32,35	-	-

Análise de variância univariada de medidas repetidas:  $p > 0,0001$ .

Letras diferentes indicam diferenças significativas das médias no grupo ( $p < 0,05$ ).

\* Indica diferenças significativas entre a média do grupo HIV-negativo e as médias dos grupos controle e estudo ( $p < 0,0001$ )

**TABELA III** - Níveis séricos de glutatona ( $\mu\text{M}$ ) nos pacientes portadores do HIV sob terapia anti-retroviral, dos grupos controle, estudo e em indivíduos soronegativos para o HIV

TEMPO (dias)	Grupo Controle n=16		Grupo Estudo n=14		HIV negativo n=12	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
0	0,989 <sup>a</sup>	0,891	0,876 <sup>a</sup>	0,938	4,812*	1,687
60	1,114 <sup>b</sup>	0,903	1,234 <sup>b</sup>	1,269	-	-
120	1,266 <sup>c</sup>	1,004	1,474 <sup>c</sup>	1,229	-	-
180	1,247 <sup>c</sup>	0,911	1,566 <sup>c</sup>	1,015	-	-

Análise de variância univariada de medidas repetidas:  $p > 0,0001$ .

Letras diferentes indicam diferenças significativas das médias no grupo ( $p < 0,05$ ).

\* Indica diferenças significativas entre a média do grupo HIV-negativo e as médias dos grupos controle e estudo ( $p < 0,0001$ )

$\beta_2$ -microglobulina, IgG, IgA, IgM, haptoglobina e  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida, não se verificando efeitos aditivos da suplementação de NAC, em relação à medicação anti-retroviral à qual os pacientes foram submetidos.

Após 180 dias de tratamento anti-retroviral, cinco pacientes do Grupo Estudo e três pacientes do Grupo Controle apresentaram aumento da carga viral. Esta alteração foi refletida com intensidade variada nos diferentes marcadores estudados. Os níveis séricos de IgM apresentaram resposta mais intensa, verificando-se aumento considerável no mesmo período em que ocorreu o aumento dos níveis plasmáticos de RNA do HIV-1, enquanto os níveis séricos de  $\beta_2$ -microglobulina mantiveram-se decrescentes neste mesmo período. As alterações dos níveis séricos dos marcadores da ativação celular e do processo inflamatório podem ser atribuídas, em parte, à variação na quantidade de antígeno do HIV-1 presente (Ogg *et al.*, 1998) e aos níveis de proteínas do vírus, como a Tat e a Vpr, que regulam a expressão da IL-8 através da ativação

do NF- $\kappa$ B (Mahieux *et al.*, 2001; Roux *et al.*, 2000) e, possivelmente, de outras citocinas.

O aumento dos níveis séricos de IL-6 tem sido descrito em pacientes infectados pelo HIV-1, na ausência de infecções oportunistas, sendo associado à maior produção em decorrência da progressão da infecção (Ullum *et al.*, 1996). De fato, os níveis séricos desta interleucina apresentaram acentuada diminuição em consequência do tratamento nos dois grupos estudados. Entretanto, os níveis séricos de IL-6 parecem não se relacionar com a severidade da infecção pelo HIV, ou com o estado de ativação imuno celular, na ausência da medicação anti-retroviral, visto que seus níveis séricos basais apresentaram-se aumentados em apenas sete dos vinte e quatro pacientes avaliados.

Não existem estudos anteriores sobre a associação da NAC à terapia anti-retroviral, em pacientes infectados pelo HIV, havendo apenas relatos sobre a administração isolada da NAC. Herzenberg *et al.* (1997), em estudo realizado com pacientes assintomáticos com contagem de

CD4<500/ $\mu$ L, demonstraram que os níveis séricos de glutathiona podem ser restaurados pela suplementação oral com doses de NAC, que variam de 4 a 8 g/dia, por oito semanas. Ainda neste estudo de Herzenberg *et al.* (1997) aqueles pacientes que continuaram a tomar NAC, até a trigésima segunda semana, apresentaram maior sobrevida que aqueles que não continuaram tomando NAC. Em um estudo duplo cego, controlado com placebo, Åkerlund *et al.* (1996) trataram 45 pacientes com 800 mg/dia de NAC, via oral, durante quatro meses, verificando diminuição dos níveis séricos de TNF- $\alpha$  e menor redução do número de linfócitos CD4. Look *et al.* administraram NAC (1800 mg/dia) e selenito de sódio (500  $\mu$ g/dia), durante 24 semanas, a pacientes assintomáticos infectados pelo HIV, observando aumento percentual de linfócitos CD4 e da relação linfócitos CD4/CD8, mas não verificaram diminuição nos níveis plasmáticos de RNA viral. A suplementação variável com NAC (600 a 1800 mg/dia, durante 180 dias), em pacientes portadores do HIV, promoveu diminuição dos níveis de apoptose de linfócitos induzida pelo TNF- $\alpha$  (Olivier, 1996). A associação da NAC (infusão intravenosa de 300 mg/kg<sup>-1</sup> 24h<sup>-1</sup>, por 72 horas, seguida de 5 g/6h, via oral) com vitamina C (3 g/6 h), durante 6 dias, não alterou os níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$  e o número de linfócitos CD4, mas diminuiu os níveis de receptores solúveis de TNF- $\alpha$  (Müller *et al.*, 2000). Contudo, é importante ressaltar que, embora em nosso estudo, o grupo suplementado com 600 mg/dia de NAC tenha apresentado aumento dos níveis séricos de cisteína e glutathiona maior que o do grupo não suplementado, após 180 dias de tratamento, estas concentrações ainda foram inferiores àquelas verificadas em indivíduos soronegativos para o HIV. Isto sugere que a ausência de efeitos aditivos da NAC ao tratamento anti-retroviral deve-se, possivelmente, à reposição insuficiente dos níveis séricos de cisteína e glutathiona. Portanto, seria recomendável que as concentrações séricas de cisteína e glutathiona fossem avaliadas, antes e durante a suplementação dos indivíduos soropositivos para o HIV, para determinar as doses de NAC necessárias para a reposição efetiva destes tióis. Outro fator importante a ser considerado para o tratamento suplementar com a NAC é a sua biodisponibilidade de aproximadamente 10%, em doses de até 600 mg/dia (De Caro *et al.*, 1989), indicando que doses mais elevadas devam ser utilizadas para a reposição em pacientes deficientes em glutathiona. Entretanto, é importante ressaltar que doses elevadas de NAC podem apresentar efeitos colaterais como enjôos, náuseas e distúrbios gastrintestinais (Zimet, 1988), acentuando estes mesmos efeitos colaterais apresentados pela medicação anti-retroviral, o que dificultaria ainda mais a adesão dos pacientes ao tratamento.

Concluindo, a suplementação oral com 600 mg/dia de NAC foi insuficiente para acrescentar benefícios, em relação à ativação celular e à resposta inflamatória, além daqueles decorrentes do tratamento anti-retroviral.

## ABSTRACT

### **N-acetylcysteine supplementation of HIV-infected patients under the first anti-retroviral treatment: Evaluation of the effect on viral load, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, $\beta_2$ -microglobulin, IgA, IgG, IgM, haptoglobin and $\alpha_1$ -acid glycoprotein**

*Human immunodeficiency virus infection is associated with a progressive elevation of viral load and with a continuous destruction of the immune cellular defense system which is marked by immunological and inflammatory disorders characteristic of HIV-infected individuals. These alterations are characterized by elevated levels of tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin 8 (IL-8),  $\beta_2$ -microglobulin, IgA, IgG, IgM, haptoglobin and  $\alpha_1$ -acid glycoprotein. The goal of this double blind placebo-controlled study was to evaluate the effect of N-acetylcysteine supplementation on virological, immunological and inflammatory markers in 24 HIV-infected individuals who were taking their first anti-retroviral therapy. Eleven individuals were treated with anti-retroviral therapy plus placebo supplementation and thirteen were treated with anti-retroviral therapy plus 600 mg/day of N-acetylcysteine. The levels of the studied markers were evaluated at the day before and after 60, 120 and 180 days of treatment. In both groups a significant decrease in serum levels of TNF- $\alpha$  ( $p=0.0001$ ), IL-6 ( $p>0.05$ ), IL-8 ( $p=0.0001$ ),  $\beta_2$  microglobulin ( $p=0.0005$ ), IgA ( $p=0.007$ ), IgG ( $p=0.001$ ), IgM ( $p=0.0001$ ), haptoglobin ( $p=0.0001$ ) e  $\alpha_1$ -acid glycoprotein ( $p=0.012$ ) was found due to anti-retroviral therapy. N-acetylcysteine supplementation had no additive or synergistic effects on the studied parameters. In conclusion, N-acetylcysteine had no additional beneficial effects, at least at the dose used in this study, on the treatment of HIV-infected patients under anti-retroviral therapy.*

*UNITERMS: AIDS. N-acetylcysteine. Glutathione. Interleukins.*

## AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela bolsa PICD concedida a Arício Treitinger, ao CNPq, pela bolsa de produtividade concedida a Dulcineia S.P. Abdalla, à Zambon Laboratórios Farmacêuticos Ltda, pelo fornecimento da N-

acetilcisteína, à DPC-Medlab Produtos Médicos Hospitalares Ltda, pelo fornecimento dos reagentes para determinação de TNF- $\alpha$  e da interleucina 8 e à Secretaria Municipal de Saúde de Florianópolis e ao Hospital Nereu Ramos, pelo apoio à viabilização deste estudo no Ambulatório de DST/AIDS.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÄKERLUND, B., JARSTRAND, C., LINDEKE, B., SÖNNERBERG, A., ÄKERBLAD, A. C., RASSOL, O. Effect of N-acetylcysteine (NAC) treatment on HIV-1 infection: a double blind placebo-controlled trial. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, Berlin, v.50, p.457-461, 1996.
- AMADORI, A., CHIECO-BIANCHI, L. B cell activation and HIV infection: deeds and misdeeds. *Immunol. Today*, Amsterdam, v.11, p.374-379, 1990.
- BAEUERLE, P. A., BAICHWAL, V. R. NF-kappa B as a frequent target for immunosuppressive and anti-inflammatory molecules. *Adv. Immunol.*, New York, v.65, p.111-137, 1997.
- CENTERS FOR DISEASES CONTROL. 1993 Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMRV*, Atlanta, v.41, p.1-19, 1992.
- CLERICI, M., SHEARER, G. M. The TH1-TH2 hypothesis of HIV infection: new insights. *Immunol. Today*, Amsterdam, v.15, p.575-581, 1994.
- DE CARO, L., GHIZZI, A., COSTA, R., LONGO, A., VENTRSCA, G. P., LODOLA, E. Pharmacokinetics and bioavailability of oral acetylcysteine in health volunteers. *Arzneim. Forsch.*, Aulendorf, v.39, p.382-386, 1989.
- DRÖGE, W., SCHULZE-OSTHOFF, K., MIHIM, S., GALTER, D., SCHENK, H., ECK, H. P., ROTH, S., GMÜNDER, H. Functions of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. *FASEB J.*, Bethesda, v.8, p.1131-1138, 1994.
- EYLAR, E., RIVERA-QUIMONES, C., MOLINA, C., BAEZ, I., MOLINA, F., MERCADO, C. M. N-acetylcysteine enhances T cell functions and growth in culture. *Int. Immunol.*, Oxford, v.5, p.97-101, 1993.
- FAHEY, J. L. Cytokines, plasma immune activation markers, and clinically relevant surrogate markers in HIV infection. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, v.5, p.597-603, 1998.
- FAUCI, A. S. Host factors and the pathogenesis of HIV-induced disease. *Nature*, London, v.384, p.529-534, 1996.
- FERNANDEZ, A., KIEFER, J., FOSDICK, L., MCKONKEY, D. J. Oxygen radical production and thiol depletion are required for Ca<sup>2+</sup>-mediated endogenous endonuclease activation in apoptotic thymocytes. *J. Immunol.*, Baltimore, v.155, p.5133-5139, 1995.
- HERZENBERG, L. A., DE ROSA, R. S., 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. USA*, Washington, v.5, p.1967-1972, 1997.
- LANE, H. C., MASUR, H., EDGAR, L. C., WHALEN, G., ROOK, A. H., FAUCI, A. S. Abnormalities of B cell activation and immunoregulation in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v.309, p.453-8, 1983.
- MAHIEUX, R., LAMBERT, P. F., AGBOTTAH, E., HALANSKI, M. A., DENG, L., KASHANCHI, F., BARDY, J. N. Cell cycle regulation of human interleukin-8 gene expression by the human immunodeficiency virus type 1 tat protein. *J. Virol.*, Baltimore, v.75, p.1736-1743, 2001.
- MIHM, S., ENNEN, J., PESSARA, U., KURTH, R., DRÖGE, W. Inhibition of HIV-1 replication and NF- $\kappa$ B activity by cysteine and cysteine derivatives. *AIDS*, London, v.5, p.497-503, 1991.
- MONNET, D., KACOU, E., GERSHY, D., LONSDORFER, A., ODEHOURIM K., YAPO, A. E. Marqueurs de la réaction inflammatoire et marqueurs nutritionnel au cours de l'infection à HIV. *Ann. Biol. Clin.*, Paris, v.41, p.428-432, 1991.
- MÜLLER, 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.*, Berlin, v.30, p.905-914, 2000.



- OGG, G. S., JIN, X., BOHNHOEFFER, S., DUNBAR, P. R., NOWAK, M. A., MONARD, S., SEGAL, J. P., CAO, Y., ROWLAND-JONES, S. L., CERUNDOLO, V. Quantification of HIV-1 specific cytotoxic T lymphocytes and plasma load of viral RNA. *Science*, Washington, v.279, p.2013-2016, 1998.
- OLIVIER, R. Flow cytometry technique for assessing effects of N-acetylcysteine on apoptosis and cell viability of human immunodeficiency virus infected Lymphocytes. *Methods Enzymol.*, New York, v.251, p.270-279, 1995.
- PACE, G. W., LEAF, C. D., The role of oxidative stress in HIV disease. *Free Rad. Biol. Med.*, New York, v.19, p.523-528, 1995.
- ROEDERER, M., STAAL, F. J. T., RAJU, P., ELA, S. W., HERZENBERG, L. A., HERZENBERG, L. A. Cytokine stimulated HIV replication is inhibited by N-acetylcysteine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, Washington, v.87, p.4884-4888, 1990.
- ROUX, P., ALFIERI, C., HRIMECH, M., COHEN, E. A., TANNER, J. E., Activation of transcription factors NF- $\kappa$ B and NF-IL-6 by human immunodeficiency virus type 1 protein R (Vpr) induces interleukin-8 expression. *J. Virol.*, Baltimore, v.74, p.4658-4665, 2000.
- SABIN, C. A., DEVEREUX, H., PHILLIPS, N. A., HILL, A., JANOSY, G., LEE, C. A., LOVEDAY, C. Course of viral load throughout HIV-1 infection. *J. Acquired Immune Def. Syndr.*, Local, v.23, p.172-177, 2000.
- SAIKUMAR, P., DONG, Z., MIKAILOV, V., DENTON, M., WEIMBERG, J. M., VENKATACHALAM, M. A. Apoptosis: Definition, mechanisms, and relevance to disease. *Am. J. Med.*, New York, v.107, p.489-506, 1999.
- SCHRECK, R., RIEBER, P., BAEUERLE, P. A. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF- $\kappa$ B transcription factor and HIV-1. *EMBO J.*, Oxford, v.10, p.2247-2258, 1991.
- SCHLUGER, N. W., ROM, W. N. Early responses to infection: chemokines as mediators of inflammation. *Curr. Opin. Immunol.*, London, v.9, p.504-508, 1997.
- SIMON, G., MOOG, C., OBERT, G. Effects of glutathione on human immunodeficiency virus replication. *Chem. Biol. Interact.*, Shanon, v.91, p.217-224, 1994.
- STAAL, F. J. T., ROEDERER, M., RAJU, P., ANDERSON, M. T., ELA, S. W., HERZENBERG, L. A., HERZENBERG, L. A. Antioxidants inhibit stimulation of HIV transcription. *AIDS. Res. Hum. Retroviruses*, New York, v.9, p.299-306, 1993.
- STAAL, F. J., ELA, S. W., ROEDERER, M., ANDERSON, M. T., HERZENBERG, L. A., HERZENBERG, L. A. Glutathione deficiency and human immunodeficiency virus infection. *Lancet*, London, v.339, p.909-912, 1992.
- ULLUM, H., DIAMANT, M., VICTOR, J., GOTZSCHE, P. C., BENDTZEN, K., SKINHOJ, P., PEDERSEN, B. K. Increased circulating levels of interleukin-6 in HIV-seropositive subjects. *J. Acquired Immune Def. Syndr.*, New York, v.13, p. 93-99, 1996.
- VECCHIONE, G., MARGAGLIONE, M., GRANDONE, E., COLAIZZO, D., CAPPUCCI, G., FERMO, I., D'ANGELO, A., DI MINNO, G. Determining sulfur-containing amino acids by capillary electrophoresis: a fast novel method for total homocyst(e)ine human plasma. *Electrophoresis*, Weinheim, v.20, p.569-574, 1999.
- VERHOFSTEDDE, C., RENIERS, S., WANZEELE, F., PLUM, J. Evaluation of proviral copy number and plasma RNA level as early indicators of progression in HIV infection: correlation with virological and immunological markers of disease. *AIDS*, London, v.8, p.1421-1427, 1994.
- WALMSLEY, S. L., WINN, L. M., HARRISON, M. L., UETRECHT, 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*, London, v.11, p.1689-1697, 1997.
- ZIMET, I. Acetylcysteine: A drug that is more than a mucokinetic. *Biomed. Pharmacother.*, Paris, v. 42, p. 203-204, 1988.

Recebido para publicação em 05 de novembro de 2001.