



# Alterações metabólicas e inflamatórias em condições de estresse oxidativo

José Carlos Rebuglio Velloso<sup>1,\*</sup>; Gisele Chibinski Parabocz<sup>1</sup>; Francine Alessandra Manente<sup>1</sup>; Josilaine Tonin Ribas<sup>1</sup>; Liliâne Werle Lima<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Análises Moleculares e Bioquímicas – Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Setor de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG, Ponta Grossa-PR, Brasil.

## RESUMO

O estresse oxidativo pode ser definido com o desequilíbrio entre os níveis de compostos pró-oxidantes e antioxidantes, com predomínio dos primeiros. O estado pró-oxidante vem sendo relacionado a várias patologias, como doença cardiovascular, doenças neurodegenerativas, doenças auto-imunes e cânceres, ora como sua causa, em alguns casos como consequência. Assim, torna-se importante determinar quais alterações metabólicas e inflamatórias estão relacionadas com o estresse oxidativo, para auxiliar no diagnóstico e prognóstico dessas doenças. Além dos fatores de risco clássicos, esta revisão chama a atenção para possíveis novos biomarcadores relacionados ao estresse oxidativo, entre estes estão a mieloperoxidase, paraoxonase, homocisteína e determinação do estado antioxidante.

*Palavras-chave:* Estresse oxidativo. Biomarcadores. Mieloperoxidase. Paraoxonase. Homocisteína. Perfil lipídico.

## INTRODUÇÃO

Sob diferentes circunstâncias patológicas, o paciente pode encontrar-se com uma alteração radical em seu estilo de vida, apresentando, muitas vezes, alterações metabólicas importantes e que podem ser monitoradas a fim de aumentar a eficiência do tratamento e suporte à vida. Diante disso, deve ser benéfico o uso de biomarcadores sanguíneos tradicionais e inovadores. São importantes fatores, hoje bem caracterizados e padronizados para o diagnóstico laboratorial de rotina, os níveis séricos de glicose, hemoglobina glicada (HbA1C), colesterol (total, HDL e LDL), triglicérides, proteína C reativa, troponina, e enzimas, tais como transaminases e creatina quinase (frações MM, MB e BB). Alguns destes parâmetros podem ser estudados para aplicações diferentes das

tradicionalmente conhecidas, como por exemplo, o uso da hemoglobina glicada como marcador para o diagnóstico de diabetes e não só para seu monitoramento. Da mesma forma, novos marcadores com melhor especificidade e/ou sensibilidade, ou ainda mais precoces, também têm sido estudados como parâmetros aplicáveis ao diagnóstico laboratorial e/ou monitoramento terapêutico.

## Fatores de risco e diagnóstico laboratorial

Fatores de risco clássicos, como hipercolesterolemia, hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, tabagismo, obesidade, sedentarismo e antecedentes familiares, são identificáveis em dois terços das mortes por doenças cardiovasculares (DCV), sendo que estas representam a maior causa de morte em países ocidentais. Além disso, no Brasil são responsáveis por grande parte dos gastos do Sistema Único de Saúde (Correia & Perry, 2010; Neves et al., 2004).

As lesões vasculares e aterosclerose estão associadas intrinsecamente ao processo inflamatório. Há na literatura muitos estudos clínicos e epidemiológicos que relacionam fortemente a diminuição da concentração plasmática da HDL ao desenvolvimento de disfunção endotelial e, conseqüentemente, à doença arterial coronariana (DAC). Uma baixa concentração de HDL circulante é um fator de risco independente para DAC e contribui para o aumento de eventos morbidos como acidente vascular cerebral (AVC) e infarto agudo no miocárdio (IAM). Esse efeito também é observado na síndrome metabólica que inclui resistência à insulina, intolerância a glicose e hipertensão arterial (Correia & Perry, 2010). Muitos fatores etiológicos favorecem a ocorrência de doenças cardiovasculares, dentre eles tem-se a resistência à insulina, dislipidemias, disfunção endotelial e glicação de proteínas (Lakshman et al., 2006). Muitos estudos documentaram que a adiposidade central está diretamente associada à hipertensão, doença arterial coronariana, diabetes mellitus tipo 2, bem como ao aumento do risco de morte (Poliakova et al., 2012).

Sabendo-se que o sedentarismo e a alimentação tem grande impacto no metabolismo das lipoproteínas, é natural supor prováveis alterações no perfil lipídico de indivíduos doentes e com drástica alteração no estilo de vida, como, por exemplo, quando se faz necessária a hospitalização.

*Autor correspondente:* José Carlos Rebuglio Velloso - Laboratório de Análises Moleculares e Bioquímicas – Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - Setor de Ciências Biológicas e da Saúde - Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG - e-mail: josevellosa@yahoo.com.br

Considerando-se a situação destes pacientes, muitas vezes acamados e recebendo suporte nutricional artificial (via enteral ou parenteral), torna-se interessante a avaliação laboratorial de diferentes biomoléculas marcadores do metabolismo de carboidratos e lipídios, bem como de parâmetros que evidenciem o estado funcional de diferentes órgãos e estresse oxidativo.

De acordo com Palmieri & Splendorio (2007), o campo da saúde está cada vez mais consciente da importância dos radicais livres e do estresse oxidativo. Seu rastreamento e monitorização torna-se um teste importante, considerando ainda que, não há sintomas específicos desta condição. Neste trabalho de 2007, os autores discutem alguns métodos de avaliação da capacidade antioxidante no sangue e demonstram a importância dos mesmos.

Inúmeras condutas nutricionais visam promover o aumento dos níveis do colesterol HDL (HDL-col) e a redução dos altos níveis do colesterol LDL (LDL-col) como uma forma de prevenção e tratamento das doenças vasculares. Diversos estudos demonstram o aumento da proporção da LDL oxidada no plasma de indivíduos em hemodiálise, portadores de diabetes mellitus, dislipidemias, ou de aterosclerose (Abdalla & Sena, 2008). O principal mecanismo pelo qual o HDL-col inibe a formação do LDL oxidado é através da hidrólise enzimática dos hidroperóxidos dos fosfolipídios (Correia & Perry, 2010).

A paraoxonase (PON), enzima que participa do transporte reverso do colesterol (Schiaffon et al., 1996), é uma das responsáveis pelo papel antioxidante e anti-inflamatório do HDL-col, sendo que reduz o acúmulo dos produtos de peroxidação lipídica, e detoxifica a homocisteína tiolactona, um produto do metabolismo da homocisteína que causa alterações das proteínas e aterosclerose (Goswami, et al., 2009; Lakshman et al., 2006). Os níveis de PON encontram-se diminuídos em diferentes doenças, como em alguns tipos de câncer, doença arterial coronariana, hipercolesterolemia, diabetes mellitus tipo 2, anemia ferropriva (Koksal & Kurban, 2010), doenças neurológicas, retinopatia diabética e maior susceptibilidade a organofosforados (Durrington et al., 2001).

Nos últimos anos, têm ocorrido mudanças expressivas na compreensão dos riscos e da patogênese de inúmeras doenças com implicações inflamatórias, dentre elas a obesidade, o diabetes e as doenças cardiovasculares ateroscleróticas, que juntas constituem uma crescente causa da morbimortalidade em todo o mundo. Segundo Volp et al. (2008), o processo inflamatório está relacionado com doenças cardiovasculares. Para medir o grau da inflamação subclínica, vários biomarcadores inflamatórios têm sido propostos. A reação de inflamação induzida pelos fatores de risco e a resposta imunológica associada são os principais eventos que conduzem ao processo de aterogênese (Volp et al., 2008). Portanto, os marcadores de inflamação são também alvos em potencial para a prevenção, diagnóstico e tratamento da aterosclerose (Wu & Wu, 2006).

Os adipócitos são células secretoras, e em termos quantitativos, os produtos mais importantes desta atividade secretora são os ácidos graxos livres. Outro componente importante das secreções dos adipócitos são as adipocinas, um grupo diverso de proteínas com variadas estruturas e funções fisiológicas. Considera-se cada vez mais que estas adipocinas estão relacionadas com a resistência à insulina

e a síndrome metabólica. Dentre outras condições, em que há presença de inflamação crônica moderada (subclínica), várias citocinas e proteínas de fase aguda se encontram aumentadas.

Alguns dos marcadores mais importantes incluem a proteína C reactiva (PCR). Na obesidade, por exemplo, à medida que esta se agrava, os adipócitos sofrem não só um aumento físico, mas também profundas alterações celulares e moleculares e, desta forma, a produção de fatores pró-inflamatórios aumenta (Pereira et al., 2006). Assim, um estado de inflamação crônica subclínica, está associado ao desenvolvimento do diabetes e de doenças cardiovasculares. Esse processo, mediado, em parte, pelo estresse oxidativo e por citocinas pró-inflamatórias, interfere nos mecanismos de sinalização da insulina. Pode supor que algumas biomoléculas importantes em processos inflamatórios encontrem-se alteradas em pacientes hidrocefálicos e que se torna interessante avaliação laboratorial destes indivíduos frente a marcadores do metabolismo de carboidratos e lipídios, bem como do risco cardíaco.

Embora sejam estudadas separadamente, as vias metabólicas e imunes do organismo humano são interdependentes, visto que hormônios, citocinas, fatores de transcrição e proteínas de sinalização atuam em ambas as vias, visando à homeostase do organismo. Uma resposta inflamatória considerada normal é acompanhada de alterações metabólicas e da mobilização dos estoques de energia, particularmente de lipídios, visando à eliminação do estímulo inflamatório durante a resposta de fase aguda. Neste caso, a resposta à condição inflamatória estimula as vias de catabolismo e suprime as de anabolismo, maximizando as vias de sinalização da insulina como, por exemplo, a ativação da enzima fosfo-3-quinase, que é importante na regulação da mitogênese, diferenciação celular e transporte de glicose estimulado pela insulina (Geraldo et al., 2009).

A PCR é um marcador inflamatório que desempenha um papel central na doença cardiovascular (Pereira et al., 2006). Segundo De Servi et al. (2005), a PCR pode estar elevada mesmo quando não são identificadas alterações em marcadores tradicionais como a troponina. Segundo estes autores, apesar disso, a PCR não deve ser considerada um marcador independente, pois elevações, mesmo que mínimas da troponina ( $\geq 0,01\mu\text{g/L}$ ), podem indicar lesão cardíaca e quando tem-se resultado negativo na determinação da troponina, isto pode estar relacionado à sensibilidade do método ( $0,2\mu\text{g/L}$ ) e não à ausência de dano (De Servi et al., 2005). A troponina, assim como a creatina kinase, é um marcador tradicional de dano do miocárdio (Loria et al., 2008).

A proteína C reativa é uma proteína de fase aguda, sintetizada pelo fígado e regulada por citocinas, predominantemente a IL-6, o TNF- $\alpha$  e a IL-1 (Volp et al., 2008; Pereira et al., 2006). Embora o fígado seja a principal fonte de PCR, os adipócitos e o tecido arterial também a sintetizam. Seus níveis estão aumentados em resposta às infecções ativas ou ao processo inflamatório agudo. Kacira et al. (2007) demonstraram elevação da PCR ultra-sensível (PCRus) no soro e fluido cerebrospinal de 20 pacientes com aneurisma subaracnoide hemorrágico. Is et al. (2007) demonstraram que a PCRus atinge níveis elevados no soro em pacientes de pacientes com grave lesão cerebral e pode,

portanto, ser usado como um índice inflamatório nestes casos.

Elevações modestas dos níveis de PCR estão também presentes em situações crônicas inflamatórias, como a aterosclerose, e seus níveis aproximadamente triplicam na presença de risco de doenças vasculares periféricas (Volp et al., 2008). Dessa forma, tem sido descrito pela literatura a capacidade de a PCR prever eventos cardiovasculares. Em um estudo, os valores encontrados para as pessoas com e sem síndrome metabólica foram de 1,0 mg/dL (0,5 a 2,0 mg/dL) e 0,3 mg/dL (0,2 a 0,45 mg/dL), respectivamente (Bahia et al., 2006). Em estudo com pessoas saudáveis, foi demonstrado que níveis séricos da PCR correlacionam-se com os componentes da síndrome metabólica: glicemia de jejum, circunferência da cintura, triacilgliceróis, HDL-colesterol, pressão arterial sistólica e diastólica, valores de IMC, insulina, índice de sensibilidade à insulina (SI), colesterol total e LDL colesterol (Festa et al., 2000).

Segundo Pearson et al. (2003), em pacientes com doença cardiovascular comprovada, para prevenção secundária, recomenda-se examinar proteína-C reativa periodicamente, como marcador de eficácia dos medicamentos e do estilo de vida sobre a atividade inflamatória da aterosclerose.

O interesse no estudo de proteínas inflamatórias de fase aguda tem crescido nos últimos anos, uma vez que pequenos aumentos em sua produção estão associados a um aumento no risco de doença cardiovascular. Além da PCR, a  $\alpha$ 1 glicoproteína ácida ( $\alpha$ 1-GPA) é uma proteína de fase aguda, cuja secreção é regulada pela interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e do fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), importantes mediadores da resposta inflamatória e imune e, desta forma torna-se um dos possíveis importantes marcadores de risco cardíaco (Piccirillo et al., 2004).

A ceruloplasmina é uma proteína de fase aguda e com ação antioxidante sendo uma das principais proteínas carreadoras de cobre do organismo. Níveis elevados de ceruloplasmina estão relacionados a processos inflamatórios sistêmicos e podem favorecer a ocorrência de aterosclerose (Kim et al., 2002). Baixos níveis séricos de cobre ou ceruloplasmina podem indicar deficiência deste elemento, mas, em uma fase aguda da resposta à inflamação aguda ou crônica, estes níveis podem estar mascarados (Klevay, 2012). A ceruloplasmina contribui para a defesa antioxidante agindo contra o  $H_2O_2$  e inibindo a peroxidação lipídica induzida pelo superóxido, mas aparentemente não possui atividade de superóxido dismutase (SOD). Sabe-se que os níveis de ceruloplasmina estão elevados nos casos de tumor cerebral, mas estão reduzidos na doença de Alzheimer (Yoo et al., 2006). Estas observações podem indicar certas influências funcionais da ceruloplasmina sobre atividades neuronais.

A mieloperoxidase (MPO) é uma heme proteína produzida por neutrófilos e monócitos. Ela é uma enzima liberada pela ativação e pela degranulação dos leucócitos polimorfonucleares na microcirculação coronariana nas síndromes coronarianas agudas, sendo um marcador de estresse oxidativo endotelial. Na aterosclerose, a MPO está envolvida na oxidação da fração lipoproteica de baixa densidade do colesterol (LDL-c) e na ativação de metaloproteinases, participando da instabilização e da ruptura da placa, interferindo na biodisponibilidade do

óxido nítrico derivado do endotélio, alterando, assim, o tônus vasomotor e certas propriedades anti-inflamatórias (Loria et al., 2008; Esporcatte et al., 2007). Além disso, a MPO consome óxido nítrico endotelial que apresenta ação vasodilatadora e anti-inflamatória (Loria et al., 2008).

A MPO tem sido, há algum tempo, sugerida como um dos novos parâmetros para avaliação precoce de certas condições patológicas, como infarto agudo do miocárdio (IAM) e outras doenças cardiovasculares (Esporcatte et al., 2007; Bassand et al., 2007). Uma correlação positiva foi encontrada entre a máxima taxa de modificação da lipoproteína de baixa densidade, a acidez do ambiente e elevados níveis de MPO predizem um futuro risco de doença arterial coronariana em indivíduos aparentemente saudáveis, sendo que a ativação inflamatória precede por muitos anos o início de uma doença coronária confirmada por diagnóstico (Monteiro, 2008). Em diferentes ensaios clínicos envolvendo indivíduos saudáveis, pacientes com coronariopatia crônica e aguda ou casos de insuficiência cardíaca, a elevação da MPO tem sido estudada, observando-se elevada sensibilidade e especificidade, com boa acurácia para o diagnóstico de necrose miocárdica e grande valor prognóstico para os principais eventos cardiovasculares adversos (Loria et al., 2008; Esporcatte et al., 2007).

Borato et al. (2012) observaram que indivíduos em tratamento contra o HIV com antiretrovirais de alta potência apresentavam alterações marcantes no perfil lipídico e glicêmico com elevações nos níveis da MPO e da PCR. Neste estudo, observou-se ainda que em indivíduos infectados pelo HIV e que ainda não se apresentavam em tratamento, a PCR não se encontrava elevada, mas a MPO sim, o que poderia indicar a MPO como um marcador mais precoce para possíveis alterações vasculares inflamatórias.

Vários estudos apontam para o efeito independente dos níveis de MPO na evolução da doença e ocorrência de eventos em pacientes com síndrome coronariana aguda e tem sido objeto de estudo para posterior aplicação como marcador de risco e diagnóstico de doenças coronarianas e também para o acompanhamento da evolução do quadro clínico de pacientes atendidos em hospitais relatando dor no peito. Entretanto, ainda não é consistente o valor preditivo adicional dos níveis de MPO na estratificação de risco cardiovascular para incorporá-la à prática clínica como sinalizadora de vulnerabilidade da placa de ateroma.

Segundo Gasparin et al. (2005), a mieloperoxidase e a PCR participam de rotas metabólicas diferentes, ativadas de forma independente, mas que atuam em conjunto no processo aterosclerótico. Segundo Roman et al. (2008), a MPO participa de atividades biológicas pró-aterogênicas relacionadas à evolução da doença cardiovascular, incluindo iniciação, propagação e as fases de complicação aguda do processo aterosclerótico. Assim, a MPO e sua cascata inflamatória representam um alvo atrativo para investigação prognóstica e terapêutica na doença aterosclerótica cardiovascular.

Em estudo prospectivo, pacientes com Síndrome Coronariana Aguda (SCA) e níveis de MPO acrescidos tiveram aumento estatisticamente significativo de morte ou IAM, em 72h, 30 dias e em seis meses de acompanhamento, sendo independente dos níveis de troponina e PCR, sugerindo que a MPO fornece informação prognóstica independente e distinta de outros biomarcadores

estabelecidos. Níveis de MPO em pacientes com Síndrome Coronariana Aguda (SCA) predizem aumento de risco para eventos cardiovasculares subsequentes e estendem as informações prognósticas de outros biomarcadores tradicionais.

Junto com a Troponina T, a MPO identificou 95% de todos os eventos adversos em dois grupos de pacientes com SCA (Furtado & Polanczyk, 2006). Desta forma, com base em estudos recentes, a MPO pode ser excelente candidata para a predição e estratificação das Síndromes Coronarianas Agudas, além dos marcadores tradicionais, entretanto, o papel na prática clínica precisa ser ainda melhor definido. Estudos adicionais são necessários para confirmar seu papel nas diferentes formas de apresentação da cardiopatia isquêmica, além da padronização do ensaio, ponto fundamental para a transição desse marcador do ambiente de pesquisa para uso na rotina clínica.

A mieloperoxidase tem seu envolvimento descrito em uma série de doenças tais como aterosclerose, câncer pulmonar, Mal de Alzheimer e esclerose múltipla (Hoy et al., 2005). Lefkowitz & Lefkowitz (2008) discutem o envolvimento de reações inflamatórias associadas a espécies oxidantes e mieloperoxidase na doença de Alzheimer e propõem que esta enzima seja um alvo potencial na terapêutica de doenças neurodegenerativas. A mieloperoxidase ainda pode estar relacionada à hidrocefalia em crianças (Benso, 1965), mas pouco se sabe sobre seu valor no auxílio diagnóstico como marcador laboratorial de lesões e risco na hidrocefalia. Sendo assim, dada a possibilidade de a MPO se encontrar elevada precocemente em pacientes que apresentem elevado risco cardíaco, trabalhos que visem definir, ou auxiliar a definição dos intervalos de referência para os níveis de mieloperoxidase em condições de saúde e doença são muito importantes, especificamente em pacientes hospitalizados e com alterações neurológicas como nos casos de hidrocefalia.

Os fatores de risco tradicionais para a doença arterial coronariana podem explicar cerca de dois terços dos eventos clínicos observados em triagens hospitalares, o que mantém o interesse de muitos pesquisadores em fatores bioquímicos e nutricionais que estão envolvidos na patofisiologia da doença vascular. Dois destes fatores são os antioxidantes da dieta e os níveis plasmáticos do marcador homocisteína (Maxwell, 2000).

Chama a atenção o fato de 30% a 35% dos indivíduos com DCV apresentarem normocolesterolemia (Mosher et al., 1996), porém mais de 40% dos pacientes com doença primária da artéria coronária, cerebrovascular ou vascular periférica têm elevação nos níveis séricos de homocisteína (Neves et al., 2004). Anormalidades no metabolismo da homocisteína, mesmo com elevações moderadas da mesma no soro, estão associadas a doenças vasculares, afetando vasos coronários, cerebrais e periféricos (Ventura et al., 2000). A homocisteína é formada a partir da metionina hepática, sendo metabolizada nas vias de desmetilação e de transulfuração. Seus valores séricos e urinários refletem a síntese celular.

A hiper-homocisteinemia tem sido associada à maior risco de eventos aterotrombóticos, e a literatura sugere associação causal, independente de outros fatores de risco para doença arterial. A relação entre homocisteína e função hepática também tem significado clínico, uma vez que

alterações das lipoproteínas e da depuração de metionina são comuns em pacientes com doença hepática crônica. Fatores fisiológicos, genéticos, nutricionais, induzidos por drogas e hormonais determinam hiper-homocisteinemia sérica (Neves et al., 2004) e, portanto, este é um marcador laboratorial interessante para avaliação da condição do paciente.

A eficiência do sistema de defesa antioxidante depende do equilíbrio entre a ingestão e depleção de antioxidantes. Sem a intervenção adequada dos mecanismos antioxidantes celulares, a peroxidação lipídica mediada por radicais livres pode promover a perda da integridade das membranas celulares e danos teciduais (George & Osharchiren, 2009). O estresse oxidativo gera efeitos sobre a estrutura e a função do miocárdio, dentre eles: estimula a hipertrofia cardíaca e a apoptose de miócitos, contribuindo assim para a remodelação cardíaca; contribui para alterações nas concentrações intracelulares de cálcio iônico e para a expressão e/ou atividade de proteínas carreadoras de cálcio, favorecendo a ocorrência de disfunções contráteis na IC; altera a expressão gênica para a síntese de colágeno pelos fibroblastos cardíacos e a expressão gênica e a atividade das metaloproteinases de matriz extracelular, enzimas que promovem a degradação do colágeno (Mann, 2004).

A associação entre o excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs) e doenças inflamatórias, doenças autoimunes, aterosclerose e doenças neurológicas degenerativas é o mecanismo de injúria celular mais aceito para explicar estas condições (Duarte et al., 2008). Segundo Kamper et al. (2009), o prejuízo da homeostasia entre os níveis de oxidantes e antioxidantes deve representar um mecanismo importante que relaciona o estresse oxidativo fisiológico ao risco vascular independentemente das diferenças entre os sexos. Sorg (2004) relata que o estresse oxidativo está frequentemente associado a diferentes tipos de doenças, embora não seja fácil identificar se o mesmo é a causa ou a consequência da condição observada.

Em situações em que a produção de espécies reativas de oxigênio supera os sistemas de defesa antioxidante, estas EROs em excesso podem oxidar lipídios de membrana, desnaturar proteínas e atacar ácido nucléicos, o que constitui a base molecular de diversas doenças com envolvimento inflamatório (Er et al., 2007).

Diferentes marcadores do estresse oxidativo são utilizados em estudos sobre exercícios físicos, nutrição ou exposição a diferentes xenobióticos, sendo que a maioria dos parâmetros é medida no sangue dos indivíduos estudados e proporciona uma indicação confiável sobre o *status* redox nos tecidos (Veskoukis et al., 2009). De acordo com Rice-Evans & Miller (1997) a mensuração da atividade antioxidante total do soro e em outros fluidos biológicos pode ser interessante na avaliação de indivíduos em diferentes condições patológicas.

Vários estudos mostram aumento do estresse oxidativo na insuficiência cardíaca (IC) caracterizado pela elevação dos níveis circulantes de marcadores de peroxidação lipídica, bem como redução dos níveis séricos e atividade de elementos antioxidantes (vitaminas C, A, E, carotenoides e ácido úrico, superóxido dismutase - SOD e glutatona peroxidase - GPx), em pacientes com IC, quando comparados com pacientes sem IC (Duncan et al., 2005).

O estresse oxidativo pode contribuir com muitas doenças neurológicas decorrentes de outras condições patológicas, tais como, infecções, hemorragias e traumas encefálicos (Socci et al., 1999). Segundo Caner et al. (1993), em ratos que tiveram hidrocefalia induzida experimentalmente, houve alterações nos vasos cerebrais e ocorrência de lipoperoxidação, a qual poderia ser a causa das alterações teciduais observadas por microscopia eletrônica. Del Bigio et al. (2012) observaram que a hipóxia decorrente da hidrocefalia contribui com alterações cerebrais via peroxidação e nitrosilação.

A superóxido dismutase (SOD) é uma das principais enzimas antioxidantes em mamíferos e cataliza a dismutação do radical ânion superóxido a oxigênio e água. Este e outros peróxidos são convertidos em produtos não tóxicos pela ação da catalase, glutathione peroxidase (GPx) e glutathione (GSH) (Er et al., 2007). A glutathione reduzida (GSH) possui papel central na biotransformação e eliminação de xenobióticos e na defesa das células contra o estresse oxidativo. Este tripeptídeo é encontrado intracelularmente em altas concentrações, essencialmente em todos os organismos aeróbicos.

A GSH é o mais abundante tiol celular de baixa massa molecular; a sua concentração é 2mM e mais de 10 mM em eritrócitos humanos e hepatócitos, respectivamente. Muitas das reações da GSH envolvem o grupo sulfidril (SH), altamente polarizável e com habilidade de doar elétrons a outros compostos, o que faz da glutathione um bom redutor. A combinação de sua abundância nos organismos aeróbicos e das propriedades químicas do grupo sulfidril suporta a proposta de que a GSH surgiu na evolução bioquímica como uma proteção contra espécies reativas de oxigênio e compostos eletrofílicos gerados por processos oxidativos, tanto no organismo quanto no ambiente em que este vive (Huber et al., 2008) e, desta forma, a investigação do envolvimento da GSH em processos fisiopatológicos requer sua detecção e quantificação, o que pode ser realizado em diferentes matrizes.

Um importante sistema enzimático de defesa contra radicais livres envolve a glutathione peroxidase encontradas em muitos tecidos de origem animal e que incorporam um resíduo de selenocisteína no seu sítio ativo. Esta enzima catalisa a oxidação de GSH a GSSG com consumo de hidroperóxidos. A GPx é importante no controle dos níveis de hidroperóxidos fosfolipídicos formados a partir do ataque de espécies radiculares às membranas (Huber et al., 2008) e também pode ser mensurada em matrizes biológicas, assim como a glutathione reductase (GRx), enzima responsável pela redução da GSSG a GSH.

O cobre e o zinco apresentam função essencial no equilíbrio oxidantes/antioxidantes. A relação entre os níveis de minerais e diabetes mellitus (DM) tem sido frequentemente relatada e a falta destes elementos pode promover desequilíbrio nos níveis de antioxidantes, o que pode favorecer o desenvolvimento de DM bem como suas complicações (Viktorinová et al., 2009). Elementos “traço” são sugeridos como bons indicadores para o diagnóstico de diversas doenças. O zinco age como antioxidante por proteger os grupos sulfidril de enzimas e proteínas contra o ataque de radicais livres (Viktorinová et al., 2009). A deficiência marginal em cobre é fator de risco para doença cardiovascular (DiSilvestro, 2012). Apesar de poder agir

como pró-oxidante devido a sua participação na geração de radicais livres, o cobre, assim como o zinco, é cofator importante para enzimas antioxidantes como, por exemplo, a superóxido dismutase.

Segundo DiSilvestro (2012), os níveis de cobre correlacionam-se positivamente com os níveis de SOD e HDL e negativamente aos níveis de LDL oxidada e homocisteína. Além da participação importante no mecanismo antioxidante, o cobre é importante para a atividade da ceruloplasmina e paraoxonase e reduz a oxidação da LDL (Klevay, 2012). Desta forma, as alterações no metabolismo do cobre e do zinco podem estar implicadas em diferentes processos em que há participação do estresse oxidativo.

O selênio é micronutriente essencial na formação de glutathione peroxidase. Baixos níveis de selênio foram associados à ocorrência de aterosclerose e hiper-homocisteinemia. Em estudo de observação de aproximadamente mil homens, com idades entre 55 e 74 anos, baixos níveis de selênio sérico foram associados a DCV e AVC. O selênio pode, ainda, reduzir a atividade pró-oxidante do cobre de várias formas: interferindo em sua absorção, ligando-se ao cobre livre ou reagindo com ele para formar um composto quimicamente inativo (Harboe-Gonçalves et al., 2007)

Muitos estudos sugerem que os sistemas antioxidantes permitem às células seguirem diferenciação normal e alterações nesse sistema são determinantes em diferentes processos patológicos (Er et al., 2007). Desta forma, torna-se interessante a determinação do *status* antioxidante, em indivíduos sob diferentes situações patológicas, por meio de diferentes parâmetros, tais como peroxidação lipídica, SOD, GPx, GPRx, GSH, selênio, cobre, zinco, dentre outros.

Conforme apresentado ao longo deste trabalho de revisão, diferentes estudos utilizam diferentes marcadores na tentativa de, para cada condição estudada, esclarecer a ocorrência do estresse oxidativo. Embora comuns na comunidade científica, amplamente publicados em artigos científicos, tais testes ainda não são rotineiramente aplicados nas análises clínicas, em parte por ainda não existir uniformidade na padronização das técnicas empregadas e definições de valores de referência, com variações entre as marcas de kits ou ainda técnicas montadas nos próprios laboratórios de pesquisa. Apesar de muitos destes biomarcadores ainda não apresentarem aplicação indicada por sociedades médicas, os mesmos são de grande potencial para o futuro no diagnóstico laboratorial e os profissionais de saúde devem estar atentos aos mesmos.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As doenças crônicas constituem um grave problema de saúde pública, contando com altos índices de morbidade e mortalidade, gerando um alto ônus para governo e paciente durante o tratamento. O diagnóstico precoce pode aumentar as chances de sucesso do tratamento, para isso é necessária a ininterrupta pesquisa sobre novos biomarcadores. Estando o estresse oxidativo relacionado com a maioria destas doenças, faz-se importante determinar quais são as alterações metabólicas e inflamatórias relacionadas.

Além dos fatores de risco clássicos, apontam-se potencial para novos biomarcadores em doenças relacionadas ao estresse oxidativo, tais como marcadores inflamatórios - proteína-C-reativa, ceruloplasmina e mieloperoxidase -, marcadores metabólicos - paraoxonase, adipocinas, homocisteína - e determinação do *status* antioxidante, através da investigação de enzimas antioxidantes (SOD, GPx, GPRx), glutatona e microelementos envolvidos com a atividade antioxidante.

## ABSTRACT

### *Metabolic and inflammatory changes in oxidative stress situations*

**Oxidative stress can be defined as an imbalance between the levels of pro-oxidant and antioxidant compounds, with the former predominating. The pro-oxidant status has been linked to several diseases, such as cardiovascular, neurodegenerative and autoimmune diseases and cancers, at times as the cause, at others as a result. Thus, it is highly relevant to determine which metabolic and inflammatory disorders are associated with oxidative stress, to help in the diagnosis and prognosis of these diseases. In addition to the classical risk factors, this review highlights possible new biomarkers related to oxidative stress, among which are myeloperoxidase, paraoxonase, homocysteine and determination of the antioxidant status.**

**Keywords:** Oxidative stress. Biomarkers. Myeloperoxidase. Paraoxonase. Homocysteine. Lipid profile.

## REFERÊNCIAS

- Abdalla DSP, Sena KCM. Biomarcadores de peroxidação lipídica na aterosclerose. *Rev Nutr.* 2008; 21(6):749-56.
- Bahia L, Aguiar LG, Villela N, Bottino D, Godoy-Matos AF, Geloneze B, Tambascia M, Bouskela E. Relationship between adipokines, inflammation, and vascular reactivity in lean controls and obese subjects with metabolic syndrome. *Clinics.* 2006;61(5):433-40.
- Bassand JP, et al. Orientações para o diagnóstico e tratamento de síndromes coronárias agudas sem elevação do segmento ST. *Eur Heart J.* 2007;28:2256-95. DOI:10.1093/eurheartj/ehm305.
- Benso L. Research on leukocyte peroxidase level in children affected by hydrocephaly. *Minerva Pediatr.* 1965;17(31):1657-65.
- Borato DCK, Parabocz GC, Ribas SRW, Kalva-Filho CA, Borba LM, Ito CAS, Bail L, Santos FA, Velloso JCR. Changes of metabolic and inflammatory markers in HIV infection: glucose, lipids, serum Hs-CRP and myeloperoxidase. *Metabolism.* 2012;61(10):1353-60. DOI: 10.1016/j.metabol.2012.03.003.
- Caner H, Atasever A, Kiliac K, Durgun B, Peker S, Ozcan OE. Lipid peroxide level increase in experimental hydrocephalus. *Acta Neurochir.* 1993;121(1-2):68-71.
- Correia JD, Perry IDS. Dietary modulation of activity of paraoxonase human studies review. *Rev HCPA.* 2010; 30(3):271-78.
- De Servi S, Mariani M, Mariani G, Mazzone A. C-Reactive protein increase in unstable coronary disease. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46(8):1496-1502.
- Del Bigio MR, Khan OH, Lopes LS, Juliet PAR. Cerebral white matter oxidation and nitrosylation in young rodents with kaolin-induced hydrocephalus. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2012;71(4):274-88.
- DiSilvestro RA, Joseph EL, Zhang W, et al. A randomized Trial of copper supplementation effects on blood copper enzyme activities and parameters related to cardiovascular health. *Metabolism.* 2012;61(9):1242-6. DOI: 10.1016/j.metabol.2012.02.002.
- Duarte M, Moresco RN, De Bem AF. Metodologias para a determinação da LDL oxidada e sua aplicação como marcador de risco cardiovascular. *RBAC.* 2008; 40(2):101-6.
- Duncan BB, Duncan MS, Schmidt MI. Inflamação subclínica, obesidade, diabetes e doenças relacionadas. *Rev HCPA.* 2005; 5(3):5-16.
- Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:473-80. DOI: 10.1161/01.ATV.21.4.473.
- Er TK, Tsai SM, Wu SH, et al. Antioxidant status and superoxide anion radical generation in acute myeloid leukemia. *Clin Biochem.* 2007;40(13-14):1015-9.
- Esporcatte R, Rey HCV, Rangel FOD, Rocha RM, Mendonça-Filho HTF, Dohmann HFR, Albesi-Filho FM. Valor preditivo da mieloperoxidase na identificação de pacientes de alto risco admitidos por dor torácica aguda. *Arq Bras Cardiol.* 2007; 89(6):377-84.
- Festa A, D'agostino R, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome. The insulin resistance atherosclerosis study (IRAS). *Circulation.* 2000;102:42-7. DOI: 10.1161/01.CIR.102.1.42.
- Furtado MV, Polanczyk CA. Triagem de Síndrome Coronariana Aguda na sala de emergência. *Rev Soc Cardiol RS.* 2006;15(7):1-5.
- Gasparin AA, Melchior R, Camargo P, Luchese A, Campagnolo M, Werres Jr L, Rohde L, Polanczyk C. Implicação prognóstica da mieloperoxidase e proteína C reativa em pacientes com cardiopatia isquêmica estável. *Rev HCPA.* 2005;25(Supl. 1):87.
- George BO, Osharechiren OI. Oxidative stress and antioxidant status in sportsmen two hours after strenuous exercise and in sedentary control subjects. *Afr J Biotechnol.* 2009; 8(3):480-3.
- Geraldo JM, Costa JÁ, Priore SE, Alfnas RCG, Franceschini RCC. Utilização de biomarcadores

- inflamatórios para avaliação do estado Nutricional. *Rev Bras Nutr Clín.* 2009;24(1):40-52.
- Goswami B, Tayal D, Gupta N, Mallika V. Paraoxonase: a multifaceted biomolecule. *Clin Chim Acta.* 2009;410(1-2):1-12. DOI: 10.1016/j.cca.2009.09.025
- Harboe-Gonçalves L, Vaz LS, Buzzi M. Avaliação dos níveis de hiper-homocisteinemia, vitamina E, selênio, cobre, ceruloplasmina e ferritina em pacientes com diagnóstico de acidente vascular isquêmico. *J Bras Patol Med Lab.* 2007;43(1):9-15.
- Hoy A, Leininger-Muller B, Kuttler D, et al. Growing significance of myeloperoxidase in non-infectious diseases. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40(1):2-8.
- Huber PC, Almeida WP, Fátima A. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. *Quím Nova.* 2008;31(5):1170-9.
- Is M, Coskun A, Sanus GZ, et al. High-sensitivity C-reactive protein levels in cerebrospinal fluid and serum in severe head injury: relationship to tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6. *J Clin Neurosci.* 2007;14(12):1163-71.
- Kacira T, Rahsan K, Atukeren P, et al. Detection of caspase-3, neuron specific enolase, and high-sensitivity C-reactive protein levels in both cerebrospinal fluid and serum of patients after aneurismal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 2007;60(4):674-9; discussion 679-80.
- Kamper EF, Chatgizeorgiou A, Tsimpoukid O, Kamper M, Dalla C, Pitychoutis PM, Papadopoulou-Daifoti Z. Sex differences in oxidant/antioxidant balance under a chronic mild stress regime. *Physiol Behav.* 2009;98(1-2):215-22. DOI: 10.1016/j.physbeh.2009
- Kim CH, Park JY, Kim JY, Choi CS, et al. Elevated serum ceruloplasmin levels in subjects with metabolic syndrome: a population-based study. *Metabolism.* 2002;51(7):838-42.
- Klevay LM. Searching for people low in copper. *Metabolism.* 2012;61(9):1201-4. DOI: 10.1016/j.metabol.2012.01.002
- Koksal H, Kurban S. Total oxidant status, total antioxidant status, and paraoxonase and arylesterase activities during laparoscopic cholecystectomy. *Clinics.* 2010;65(3):285-90. DOI: 10.1590/S1807-59322010000300008.
- Lakshman MR, Gottipati CS, Narasimhan SJ, et al. Inverse correlation of serum paraoxonase and homocysteine thiolaconase activities and antioxidant capacity of high-density lipoprotein with the severity of cardiovascular disease in persons with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2006;55(9):1201-6.
- Lefkowitz DL, Lefkowitz SS. Microglia and myeloperoxidase: A deadly partnership in neurodegenerative disease. *Free Radic Biol Med.* 2008;45(5):726-31. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.05.021.
- Loria V, Dato I, Graziani F, Biasucci LM. Myeloperoxidase: a new biomarker of inflammation in ischemic heart disease and acute coronary syndromes. *Mediators Inflamm.* 2008;2008:135625. DOI: 10.1155/2008/135625.
- Mann DL. Heart failure: a companion to Braunwald heart disease. Philadelphia: Elsevier; 2004.
- Maxwell SRJ. Coronary artery disease—free radical damage, antioxidant protection and the role of homocysteine. *Basic Res Cardiol.* 2000;95(Suppl. 1):I65-71.
- Monteiro CETB. Acidic environment evoked by chronic stress: A novel mechanism to explain Atherogenesis. Infarct Combat Project, [Internet] 2008 jan 28. [cited 2012 Out 3]; Available from: <http://www.infarctcombat.org/AcidityTheory.pdf>.
- Mosher DF. Disorders of blood coagulation. In: Wyngaarden J B, Smith LH, Bennet JC. Cecil textbook of medicine. 19<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders Company; 1996.
- Neves LB, Macedo DM, Lopes AC. Homocisteína. *J Bras Patol Med Lab.* 2004; 40(5):311-20.
- Palmieri B, Splendorio V. Oxidative stress tests: overview on reliability and use Part II. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2007;11(6):383-99.
- Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation.* 2003;107:499-511. DOI: 10.1161/01.CIR.0000052939.59093.45.
- Pereira F, Correia F, Almeida MDV. Obesidade e inflamação: o elo reconhecido. *Nutricias.* 2006;6:40-43.
- Piccirillo LJ, Gonçalves MFR, Clemente ELS, Gomes MB. Marcadores de Inflamação em Pacientes Com Diabetes Mellitus Tipo 1. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2004;48(2):253-60.
- Poliakova N, Després JP, Bergeron J, et al. Influence of obesity indices, metabolic parameters and age on cardiac autonomic function in abdominally obese men. *Metabolism.* 2012;61(9):1270-9. DOI: 10.1016/j.metabol.2012.02.006
- Rice-Evans C, Miller N. Measurement of the antioxidant status of dietary constituents, low density lipoproteins and plasma. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1997;57(4-5):499-505.
- Roman RM, Wendland AE, Polanczyk CA. Mieloperoxidase e doença arterial coronariana: da pesquisa à prática clínica. *Arq Bras Cardiol.* 2008;91(1):e12-e19.
- Schiavon R, De Fanti E, Giavarina D, et al. Serum paraoxonase activity is decreased in uremic patients. *Clin Chim Acta.* 1996;247(1-2):71-80.
- Socci DJ, Bjugstad KB, Jones HC, Pattisapu JV, Arendash GW. Evidence that oxidative stress is associated with the pathophysiology of inherited hydrocephalus in the H-Tx rat model. *Exp Neurol.* 1999;155(1):109-17.

- Sorg, O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? *C R Biol.* 2004;327(7):649-62.
- Ventura P, Panini R, Verlato C, et al. Peroxidation indices and total antioxidant capacity in plasma during hyperhomocysteinemia induced by methionine oral loading. *Metabolism.* 2000;49(2):225-8.
- Veskoukis AS, Nikolaidis MG, Kyparos A, Kouretas D. Blood reflects tissue oxidative stress depending on biomarker and tissue studied. *Free Radic Biol Med.* 2009;47(10):1371-4. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.07.014.
- Viktorínová A, Tošerová E, Križko K, Ďuračková Z. Altered metabolism of copper, zinc, and magnesium is associated with increased levels of glycated hemoglobin in patients with diabetes mellitus. *Metabolism.* 2009;58(10):1477-82. DOI: 10.1016/j.metabol.2009.04.035.
- Volp ACP, Alfenas RCG, Costa NMB, et al. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em prever a síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2008;52(3):537-549.
- Wu JT, Wu LL. Linking inflammation and atherogenesis: Soluble markers identified for the detection of risk factors and for early risk assessment. *Clin Chim Acta.* 2006;366(1-2):74-80.
- Yoo KY, Hwang IK, Eum WS, Kim DW, Kwon YG, Kang TC, Choi SY, Kim YS, Won MH. Differential effects and changes of ceruloplasmin in the hippocampal CA1 region between adult and aged gerbils after transient cerebral ischemia. *Neurosci Res.* 2006;55(2):134-41.

Recebido em 04 de outubro de 2012

Aceito para publicação em 07 de janeiro de 2013