

Marcadores de Desequilíbrio Redox em Sangue de Pacientes Hipertensos de uma Comunidade no Nordeste do Brasil

Markers of Redox Imbalance in the Blood of Hypertensive Patients of a Community in Northeastern Brazil

Sandra Mary Lima Vasconcelos^{1,2,4}, Marília Oliveira Fonseca Goulart^{1,2}, Maria Alayde Mendonça da Silva^{1,5}, Vanusa Manfredini⁶, Mara da Silveira Benfato⁶, Luiza Antas Rabelo^{1,3}, Gilberto Fontes^{1,3}

Universidade Federal de Alagoas-UFAL¹, Instituto de Química e Biotecnologia-IQB², Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde-ICBS³, Faculdade de Nutrição-FANUT⁴, Faculdade de Medicina-FAMED⁵; Maceió, AL-Brasil. Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS⁶; Porto Alegre, RS-Brasil.

Resumo

Fundamento: Estudos recentes descrevem a participação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio na hipertensão.

Objetivo: Identificar o desbalanço redox em sangue de hipertensos.

Métodos: Superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx), glutatona (GSH), vitamina C, transferrina, ceruloplasmina, malondialdeído (MDA) e o grupo carbonila, foram quantificados no sangue de 20 hipertensos e 21 controles. Os indivíduos tinham um Índice de Massa Corporal de $\geq 18,5$ e ≤ 30 kg/m², glicemia ≤ 100 mg/dL, colesterol sérico ≤ 200 mg/dL, e eram mulheres não fumantes, não grávidas e não lactantes, não usuárias de alopurinol e probucol, e hipertensos em medicação anti-hipertensiva. Todos os indivíduos foram submetidos a um período preparatório de quatro semanas sem álcool, suplementos vitamínicos, dexametasona e paracetamol.

Resultados: Níveis reduzidos de CAT ($p = 0,013$), GSH ($p = 0,003$) e MDA ($p = 0,014$), e altos níveis de GPx ($p = 0,001$) e ceruloplasmina ($p = 0,015$) foram obtidos no grupo de hipertensos, em comparação com os controles. Foi verificada uma correlação positiva entre a pressão sistólica e o MDA nos hipertensos e diastólica e CAT nos controles.

Conclusão: Os dados obtidos são sugestivos de que os hipertensos apresentavam desequilíbrio em reações redox, a despeito do possível efeito atenuante de sua medicação anti-hipertensiva. (Arq Bras Cardiol 2011; 97(2) : 141-147)

Palavras-chave: hipertensão, marcadores biológicos, antioxidantes, estresse oxidativo, enzimas.

Abstract

Background: Recent studies describe the participation of reactive oxygen and nitrogen species in hypertension.

Objective: To identify the redox imbalance in the blood of hypertensive.

Methods: Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione (GSH), vitamin C, transferrin, ceruloplasmin, malondialdehyde (MDA) and carbonyl group were quantified in the blood of 20 hypertensives and 21 controls. The individuals had a Body Mass Index of ≥ 18.5 and ≤ 30 kg/m², glycemia ≤ 100 mg/dL, serum cholesterol ≤ 200 mg/dL, and were nonsmokers, non-pregnant and non-lactating women, non-users of alopurinol and probucol, with hypertensives on antihypertensive medication. All individuals underwent a preparatory period of 4 weeks without alcohol, vitamin supplements, dexamethasone and paracetamol.

Results: Reduced levels of CAT ($p 0.013$), GSH ($p 0.003$) and MDA ($p 0.014$), and high levels of GPx ($p 0.001$) and ceruloplasmin ($p 0.015$) were obtained in the hypertensive group compared with controls. A positive correlation between systolic pressure and MDA in hypertensive and diastolic pressure and CAT in controls was obtained.

Conclusion: The data obtained suggest that the hypertensives were in redox imbalance, despite the possibly attenuating effect of their antihypertensive medication. (Arq Bras Cardiol 2011; 97(2) : 141-147)

Keywords: Hypertension; biological markers; antioxidants; oxidative stress; enzymes.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Sandra Mary Lima Vasconcelos •

Av. Dr. Hamilton Falcão, 379 – Cond. Chácaras da Lagoa, quadra F, lote 13 - Santa Amélia - 57063-250 – Maceió, AL, Brasil

E-mail: sandra-mary@hotmail.com

Artigo recebido em 10/06/10; revisado recebido em 14/12/10; aceito em 08/02/11.

Introdução

A hipertensão vem sendo objeto de muitos estudos, em razão da alta prevalência e de grande impacto na morbimortalidade: levantamentos populacionais realizados em várias cidades brasileiras indicam sua prevalência em 22,3% a 43,9%¹.

Dentre os fatores associados ao desenvolvimento da hipertensão, uma questão extremamente importante, complexa e atual é a participação de espécies reativas de oxigênio (ERO) e de espécies reativas de nitrogênio (ERN) em sua patogênese. Dessa forma, a hipótese oxidativa de hipertensão se baseia no fato de que o endotélio vascular, o órgão central para a hipertensão, é o local onde ocorrem numerosos processos de redução e oxidação, especialmente por meio das enzimas NAD(P)H oxidase, xantina oxidase (XO) e da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), que agem aumentando a produção de ânion radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), mas também por meio de forças mecânicas que estimulam a produção de $O_2^{\bullet-}$. A produção excessiva de $O_2^{\bullet-}$ favorece a reação com o óxido nítrico (*NO) e forma o peroxinitrito ($ONOO^-$), um intermediário reativo particularmente perigoso, uma vez que é capaz de formar o radical hidroxila (*OH), independentemente da presença de metais de transição. Dentre outros fenômenos associados, o desvio do *NO de sua função vasodilatadora promove o crescimento de células endoteliais e da vasoconstrição²⁻¹³. O estresse oxidativo pode ser determinado por meio de biomarcadores do equilíbrio de reações de oxidação e redução, que são quantificáveis em fluidos biológicos¹⁴.

O principal objetivo deste estudo foi quantificar alguns antioxidantes e marcadores de dano oxidativo no sangue de um grupo de hipertensos e controles.

Métodos

Seleção dos participantes do estudo

Os indivíduos incluídos no estudo eram residentes do município de Flexeiras, Alagoas (AL), Brasil, um município de pequeno porte, com área de 316 quilômetros quadrados, com uma população de 11.881 habitantes, localizado na região da Zona da Mata do Estado de Alagoas, no Nordeste do Brasil, a 60 quilômetros de distância da capital do Estado, Maceió. A principal receita de Flexeiras advém da monocultura da cana-de-açúcar, de acordo com o IBGE (<http://www.ibge.org.br>).

Indivíduos

Os participantes deste estudo foram selecionados de uma amostra de 433 dos 803 hipertensos cadastrados pelas equipes de saúde da família do município de Flexeiras em 2005. Representavam 53,92% dos hipertensos com seguimento pela saúde pública local. Os 433 hipertensos foram avaliados de janeiro a junho de 2005, com base em dados antropométricos (peso, altura, circunferência da cintura), dados clínicos (níveis de pressão arterial, diagnóstico de diabete, uso de medicamentos), dados bioquímicos (glicemia em jejum, colesterol total e triglicérides, após 12 horas de jejum), e

estilo de vida (fumo, sedentarismo). Os critérios de inclusão foram: (1) pacientes com hipertensão¹; (2) 40 a 60 anos; (3) não obesos, com Índice de Massa Corporal (IMC) ≤ 30 kg/m² e $\geq 18,5$ kg/m²; (4) com glicemia em jejum ≤ 100 mg/dL e colesterol sérico ≤ 200 mg/dL; (5) mulheres não menopáusicas, não grávidas, não lactantes e não usuárias de contraceptivos. Pacientes com diagnóstico de diabete melito, glicemia em jejum > 100 mg/dL, colesterol > 200 mg/dL, usuários de alopurinol e probucol e fumantes foram excluídos.

Sessenta e três indivíduos não hipertensos (grupo controle), voluntários, também moradores de Flexeiras, assinaram o formulário de consentimento livre e esclarecido e foram submetidos aos mesmos critérios de seleção.

Os protocolos aderiram aos princípios da Declaração de Helsinki e os pacientes que estavam em conformidade com os critérios de seleção foram incluídos após leitura e assinatura dos formulários de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), em processo nº 009991/2004-79, de 20 de novembro de 2005.

Dados socioeconômicos

Além das informações citadas, houve levantamento dos indivíduos com relação à classe social, com base nos Critérios de Classificação Econômica Brasil (CCEB) da Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa de Mercado (ABEP), renda *per capita* e nível de escolaridade.

Preparação para a coleta sanguínea

Os indivíduos selecionados foram orientados a interromper o uso de medicação interferente, como suplementos vitamínicos e minerais, paracetamol, dexametasona e bebidas alcoólicas quatro semanas antes da coleta do sangue. Durante esse período, os indivíduos foram contatados sistematicamente por meio de visitas domiciliares e telefonemas para garantir que a fase preparatória estava sendo seguida.

Amostras sanguíneas e procedimentos analíticos

Após 12 horas de jejum, as amostras sanguíneas foram coletadas e depositadas em tubos de coleta a vácuo em três frações do sangue total: (1) de 10 mL em heparina para análise das enzimas antioxidantes: superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GPx) e catalase (CAT), glutatona (GSH), todos eles em eritrócitos e carbonila em plasma; (2) 5 mL em EDTA para o hemograma, e (3) 5 mL, sem anticoagulante para as leituras de ácido úrico, ceruloplasmina (CER), transferrina, malondialdeído (MDA) e vitamina C no soro. Todo o sangue foi centrifugado a 3.000 rpm por 5 min. Uma fração de 500 μ L de soro foi armazenada em triplicata, a uma temperatura de $-20^\circ C$, enquanto uma fração de 500 μ L de soro, uma fração de 200 μ L de plasma e quatro frações de 500 μ L de plasma foram armazenadas em triplicata a uma temperatura de $-80^\circ C$.

A atividade da SOD, CAT e GPx foi determinada, respectivamente, de acordo com o kit de enzimas RANDOX-Ransod, método de Aebi e método de Paglia e Valentine. GSH foi determinada de acordo com o método de Akerboom e Sies, carbonila de acordo com o método de Levine, e MDA e vitamina C

por HPLC-UV, conforme método de Katepe. A CER e a transferrina foram analisadas com o kit de teste quantitativo Spinreact. Todos os métodos utilizados foram descritos por Vasconcelos e col¹⁴.

Análise estatística

A análise estatística envolveu inicialmente a aplicação do teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a distribuição Gaussiana. Para comparar os grupos, o teste *t* de Student, o teste do Qui-quadrado (χ^2) de Pearson e o teste de Fischer foram utilizados para as variáveis com distribuição normal, e o teste de Mann-Whitney e Spearman para as variáveis com distribuição assimétrica. Em todos os testes, adotou-se $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

Resultados

Características gerais da população estudada

Dos 433 hipertensos, 24 (5,5%) estavam em conformidade com os critérios de seleção e 20 (4,6%) concluíram o protocolo. No que tange ao grupo de controle, dos 63 voluntários estudados, 21 (33,33%) estavam em conformidade com os critérios de seleção e concluíram o protocolo. Portanto, o estudo foi conduzido com 20 hipertensos e 21 controles, cujas características demográficas, socioeconômicas, antropométricas e bioquímicas foram relacionadas na tabela 1.

Tratamento com medicação anti-hipertensiva

Os hipertensos eram submetidos à terapia anti-hipertensiva e eram usuários regulares de medicação anti-hipertensiva

Tabela 1 - Características gerais dos indivíduos dos controles e hipertensos

Variáveis	Indivíduos hipertensos (n = 20)	Controles (n = 21)	Valor de p
Idade, y†	49,95 ± 6,99	45,85 ± 6,31	NS
Sexo, M/F‡	14/6	15/6	NS
IMC, kg/m ^{2†}	26 ± 2,45	26 ± 2,94	NS
Cintura, cm†	90,16 ± 8,02	93,25 ± 7,54	NS
PAS, mmHg†	139,28 ± 11,41	113,33 ± 12,30	< 0,0001*
PAD, mmHg†	95 ± 9,40	73,33 ± 8,87	< 0,0001*
Glicose basal, mg/dL†	86 ± 10,14	81 ± 10,55	NS
Colesterol total, mg/dL†	170,85 ± 13,20	151,01 ± 23,66	NS
Classe social, C/D/E [§] //	8/10/2	8/8/3	NS
Escolaridade, 0/1/2 [§] //	9/6/5	8/5/7	NS
Renda per capita, US\$ ¶	234,76 ± 182,34	354,73 ± 207,12	NS
Fumantes	0	0	-
Menopausa	0	0	-

*Os Valores de P denotam diferenças entre hipertensos e o controle, † teste *t* de Student; ‡ Teste X² de Pearson; § teste exato de Fischer; // Critérios CCEB; ¶ 10 de novembro de 2006; NS - Não significativo.

(Tabela 2). Nesse grupo, 30% eram usuários de diuréticos, 25% utilizavam um inibidor de Enzima Conversora de Angiotensina (ACE) e 30% utilizavam uma associação de duas medicações.

Antioxidantes e biomarcadores de dano oxidativo

Os indivíduos hipertensos apresentaram níveis diminuídos de SOD, CAT, GSH, transferrina e MDA no sangue e níveis elevados de GPx, ascorbato, CER e carbonila no sangue, quando comparados aos controles. No entanto, apenas os níveis de CAT, GSH e MDA no sangue (diminuídos) e de GPx e CER (aumentados) apresentaram diferenças significativas (Tabela 3).

Correlação entre níveis pressóricos e biomarcadores de dano oxidativo

Os testes de correlação de Pearson e Spearman revelaram uma correlação positiva entre PAS e MDA ($r = 0,44$ e $p = 0,04$) nos hipertensos, e entre PAD e CAT ($r = 0,54$ e $p = 0,01$) nos controles. Dentre os biomarcadores, uma correlação negativa foi verificada entre MDA e GPx nos dois grupos ($r = -0,63$ e $p = 0,003$ nos hipertensos e $r = -0,63$ e $p = 0,004$ nos controles).

Discussão

Um estudo epidemiológico constatou uma associação positiva entre o estresse oxidativo aumentado e a redução do *status* antioxidante com fatores de risco cardiovascular na população em geral^{15,16}. Estudos experimentais e clínicos demonstraram um aumento na produção de espécies reativas em pacientes com hipertensão essencial¹⁷⁻³⁶, alguns dos quais apresentados na Tabela 4. Há uma elevada produção de O₂^{•-} na hipertensão, que levaria à formação de ONOO⁻ (por reação de O₂^{•-} com *NO), o que ocorre com uma constante de velocidade de 6,7 x 10⁹ de mol L⁻¹ s⁻¹¹⁶, enquanto a reação de dismutação de O₂^{•-} por SOD ocorre em velocidade 3 vezes mais lenta: 1,6 x 10⁹ mol L⁻¹ s⁻¹⁴. Além disso, a atividade do SOD é favorecida quando a concentração de O₂^{•-} é baixa e a de SOD é alta, o que ocorre apenas em condições fisiológicas³. Esses aspectos explicariam, em

Tabela 2 - Tratamento com medicações anti-hipertensivas

Tratamento com medicação anti-hipertensiva	Uso de medicação e dosagem (mg)	Pacientes (n, %)
Diurético	HCT†, 25 mg	6 (30%)
	Captopril 25 mg	3 (15%)
Inibidor de ACE‡	Captopril 50 mg	2 (10%)
	HCT 25 mg + Captopril 25 mg	4 (20%)
Diurético + inibidor de ACE	HCT 50 mg + Captopril 50 mg	2 (10%)
	HCT 25 mg + Captopril 25 mg + Atenolol 40 mg	1 (5%)
Nenhum medicamento		2 (10%)
Total de pacientes		20 (100%)

† HCT Hidroclorotiazida; ‡ ACE - Enzima Conversora da Angiotensina.

Tabela 3 - Antioxidantes e biomarcadores de estresse oxidativo na população do estudo

Grupos de biomarcadores	População do estudo e valores obtidos (média ± DP e mediana)		Valor de p
	Hipertensos (H) (n = 20)	Controles (C) (n = 21)	
Enzimas antioxidantes			
SOD (U/gHb) †	1.498,85 ± 575,04 1.470,00	1.649 ± 407,43 1.722,00	NS
CAT (KU/gHb) †	68,00 ± 32,83 67,24	102,08 ± 49,36 102,48	0,013*
GPx (U/gHb) ‡	20,51 ± 9,42 21,51	7,77 ± 9,60 2,00	0,0001*
Antioxidante de baixa massa molecular			
GSH (mM) ‡	5,33 ± 2,87 4,80	8,96 ± 5,19 7,00	0,003*
Ácido úrico (mg/dL) ‡	4,08 ± 1,33 3,80	3,49 ± 0,83 3,60	NS
Ascorbato (mmol/L) †	40,53 ± 12,93 37,63	34,58 ± 9,55 32,00	NS
Proteínas de transporte Fe^{+2/+3} Cu^{+1/+2}			
Transferrina (mg/dL) †	189,60 ± 32,96 188,00	194,14 ± 38,42 189,00	NS
Ceruloplasmina (mg dL) ‡	38,60 ± 8,61 37,00	33,86 ± 3,97 33,00	0,015*
Biomarcadores de dano oxidativo			
Malondialdeído (mmol/L) ‡	2,80 ± 4,49 1,42	8,51 ± 6,83 8,81	0,014*
Carbonila (nmol/gPtna) ‡	2,13 ± 1,66 1,71	1,91 ± 1,42 1,67	NS

*Os Valores de P denotam diferenças entre hipertensos e o controle, † teste t de Student; ‡ teste de Mann-Whitney. NS - Não significativo.

parte, os fenômenos pró-oxidantes da hipertensão^{3,4,16}. Além do mais, a atividade dos sistemas antioxidantes seria reduzida, o que também favoreceria o estresse oxidativo presente na hipertensão.

Estudos clínicos demonstraram uma atividade de enzimas antioxidantes diminuída entre hipertensos quando comparada aos controles^{17,18}, mas ainda não está claro se essa é uma causa ou uma consequência da hipertensão. O estresse oxidativo em um processo crônico como a hipertensão poderia consumir as reservas e prejudicar a atividade de enzimas antioxidantes.

Em vista do que discutimos anteriormente, é possível prever níveis altos de dano oxidativo e níveis baixos de antioxidantes em hipertensos. No entanto, no presente estudo, o grupo de hipertensos apresentou níveis mais baixos apenas dos antioxidantes CAT e GSH, níveis mais altos de GPx e CER, e níveis mais baixos do marcador de dano oxidativo, MDA, em comparação com o grupo de controle (Tabela 3). De fato, no que concerne às enzimas antioxidantes, os estudos de hipertensos constataram níveis baixos de SOD, CAT e GPx¹⁷⁻¹⁹ (Tabela 3), de maneira semelhante a este estudo, à exceção da GPx, que se constatou surpreendentemente alta muito embora semelhante ao observado por Ide e cols.²⁰.

A catalase pode ser inibida na presença de O₂^{•-} removido inadequadamente, gerando ferroxicalase, que não decompõe H₂O₂ rapidamente¹⁰. Isso explicaria não só os níveis de CAT

baixos, mas também os níveis de GPx altos, possivelmente indicando uma maior demanda por essa enzima, uma vez que é capaz de reduzir ONOO⁻ de maneira eficiente, impedindo, assim, a oxidação de cadeias macromoleculares e a nitratação de proteínas¹⁰. Além disso, embora não tenham sido constatadas diferenças significativas na SOD, é possível considerar que os níveis reduzidos dessa enzima eram provavelmente devidos à reação de O₂^{•-} e *NO, que é mais rápida do que a reação de O₂^{•-} e SOD, além do fato de que ela age de maneira mais eficiente em condições fisiológicas (baixa concentração de O₂^{•-}). Retornando à CAT, pode-se considerar que, com O₂^{•-} “desviado” para formar ONOO⁻, a produção de H₂O₂ por meio da SOD é menor ou permanece em níveis normais, não exigindo uma atividade adicional. Além disso, conforme mencionado anteriormente, essa enzima pode ser inibida na presença de O₂^{•-} acumulado e sua ação ação é delimitada no peroxissoma das células.

Com relação à terapia farmacológica, as medicações anti-hipertensivas que agiam como antioxidantes eram: (1) inibidores de ACE e bloqueadores de receptores de AT₁, que agem indiretamente pela inibição do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), uma importante fonte de ERO no endotélio^{3,4,7,8,11}; (2) betabloqueadores de terceira geração, por meio do aumento da liberação de *NO e glutatona na célula endotelial²¹; e (3) bloqueadores dos canais

Tabela 4 - Estudos de biomarcadores de estresse oxidativo na hipertensão

Estudos/ Referências	n	Biomarcadores estudados	Resultados obtidos H vs. C ^a e H ^b
19	H = 30 C = 164	SOD e GPx	SOD e GPx diminuídos ^a
34	H = 30 C = 30	F ₂ ISO	Indiferente ^a
18	H = 66 C = 16	GSH, GSSG, GSH/GSSG SOD, CAT, GPx, MDA, 8-OxoGUA	GSH/GSSG e MDA aumentados ^a SOD, CAT, GPx e GSH diminuídos ^a
34	H = 38 C1 = 21 C2 = 17	GSH SOD, CAT, GPx, GST Nitrito/Nitrato Carbonila e MDA	Carbonila e MDA aumentados ^a SOD diminuído ^a CAT e GPx semelhantes ^a
24	H = 89	GSH, GSSG, GSH/GSSG SOD e MDA	AO aumentado e MDA ^b diminuído
23	H1 = 70 H2 = 85 C = 40	F ₂ ISO Vitamina C e E, Ácido úrico	F ₂ ISO diminuído em H tratado (H2) ^a
17	H e C, não se refere a n	GST, GPx, Asc., tióis FRAP (Fe 3+)	GST, GPx, Asc., Tióis e FRAP diminuídos ^a
37	H + ICC = 23 C = 50	SOD e CAT MDA	SOD e CAT aumentados ^a MDA diminuído ^a
20	H = 39	FRAP	FRAP aumentado H diurético ^b
36	H = 83 C = 50	F ₂ ISO CRP e TNF α	F ₂ ISO aumentado ^a CRP e TNF α aumentados ^a

H - Hipertenso; C - Controle; SOD - superóxido dismutase; GPx - glutatona peroxidase; F₂ISO-F2 - Isoprostano; GSH - forma reduzida da glutatona; GSSG - forma oxidada da glutatona; MDA - malondialdeído; CAT - catalase; 8-OxoGUA - 8-oxoguanina; GST - glutatona S-transferase; AO - antioxidante; Asc - Ascorbato; FRAP - Capacidade redutora de ferro férrico; ICC - insuficiência cardíaca congestiva; CRP - Proteína C reativa; TNF α - Fator alfa de necrose tumoral.

de cálcio, com o aumento da disponibilidade de óxido nítrico na célula endotelial e aumento da expressão de MnSOD nas células musculares lisas vasculares²².

No grupo de hipertensos, o uso de um inibidor de ECA (captopril) em 60% dos pacientes (40% com 25 mg/dia e 20% com 50 mg/dia) exige comentários adicionais. O mecanismo antioxidante dessa medicação, embora indireto e sem uma relação dose-resposta definida, envolve a inibição do SRAA por meio da inibição da ação da angiotensina II (ANG II), que corresponde a sua ação antioxidante. ANG II é um potente estímulo para a produção de ERO na célula endotelial, aumentando a atividade de NAD(P)H oxidase. Além disso a ANGII supra-regula a atividade de da eNOS, a qual se acompanha de desacoplamento e redução na produção de •NO e aumento na produção de superóxido¹⁰. Esse efeito foi verificado em um estudo que encontrou uma associação inversa entre o F₂ isoprostano e o número e tipo de medicação anti-hipertensiva [na qual 46% correspondia ao inibidor de ECA tratado e 26%, a um bloqueador de receptor de angiotensina-1 (AT₁)]²³. Além disso, a ação antioxidante de betabloqueadores e antagonistas de receptores de AT₁ também foi relatada em um estudo de hipertensos tratados com esses medicamentos, cujos níveis de SOD, CAT e GPx aumentaram e os níveis de 8-oxo-2'-desoxiguanosina e MDA reduziram²⁴. Em contraste, um outro estudo²⁵ constatou uma capacidade antioxidante aumentada no plasma de hipertensos em uso de diuréticos tiazídicos, mas não constatou a mesma correlação positiva com o inibidor de ECA e betabloqueador, a despeito de sua ação antioxidante.

A correlação positiva evidenciada entre PAS e MDA em hipertensos é indicativa da associação entre a HAS e o estresse oxidativo, especialmente após a relação negativa obtida entre MDA e GPx nos dois grupos.

Como a glutatona age em conjunto com a GPx, os resultados foram analisados em conjunto, considerando que ambas são fundamentais na defesa contra a peroxidação lipídica, provocada por ONOO⁻. Cada unidade de GPx age por meio do consumo de duas moléculas de GSH, que é o antioxidante intracelular mais importante e está presente na célula predominantemente na forma reduzida (GSH), em detrimento da forma oxidada (GSSG). A razão GSH/GSSG > 1, que é vital para a célula, é mantida por um sistema de reciclagem eficiente de GSH a partir de GSSG¹⁰.

Na hipertensão, foram encontrados baixos níveis de GSH e a razão de GSH/GSSG < 1¹⁸. Neste estudo, a GSSG não foi medida. Nossos resultados de níveis baixos de GSH são coerentes com a literatura e seriam explicados pelo estresse oxidativo, uma vez que a ERO oxida a GSH em GSSG, levando a uma queda na GSH, o que é agravado pela conversão da GSH em GSSG no processo de desintoxicação do peróxido, pela ação da GPx.

Com relação ao ácido úrico e à vitamina C, os níveis mais elevados observados no grupo de hipertensos não foram estatisticamente diferentes, embora se saiba que a hiperuricemia está associada com a hipertensão²⁸ e a atividade antioxidante do urato envolve diferentes reações (com R[•], ROO[•], ONOO⁻, e ONO₂[•])^{10,14} agindo de forma cíclica, uma vez que pode ser recuperado pelo ascorbato, dentre outras. Ademais, é considerado um antioxidante plasmático potente, uma vez que sua concentração no plasma é dez vezes maior do que outros antioxidantes, como as vitaminas E e C¹³.

Os níveis de transferrina foram semelhantes nos dois grupos, mas os níveis de ceruloplasmina, que também é uma ferroxidase, foram maiores no grupo de hipertensos (Tabela 3). Essa constatação também representa um importante fator de proteção, em vista da atividade da ceruloplasmina no transporte

de cobre e ferro de oxidação para captura por meio da transferrina, ou seja, ela age sobre os metais de transição mais importantes com relação à capacidade de transferir elétrons em sua forma livre nos sistemas biológicos. Outros mecanismos antioxidantes incluem o sequestro de $O_2^{\cdot-}$ e H_2O_2 , a inibição da reação de Fenton, protegendo os tecidos biológicos dos efeitos danosos da descompartimentalização do ferro, a inibição da oxidação lipídica e o bloqueio de proteínas e os danos ao DNA, sendo verificados por meio da inibição da formação de carbonila e proteção da célula contra danos e a dissolução causada pela ERO^{11,27}. No entanto, em situações de estresse oxidativo, a ceruloplasmina pode agir como um pró-oxidante no meio intravascular, uma vez que $ONOO^-$ e H_2O_2 podem induzir a dissociação da ligação de Cu^{2+} livre da proteína, favorecendo sua liberação no meio intracelular, assim como diminuindo sua atividade ferroxidase²⁷. De fato, diversos estudos constataram uma correlação entre a ceruloplasmina e a doença cardiovascular, e alguns estudos prospectivos e casos de controle indicaram que ela constitui em um fator de risco cardiovascular²⁸, o que corresponde a um biomarcador cuja atividade pró-oxidante parece predominar em determinadas circunstâncias, incluindo na doença cardiovascular.

Foi observada uma diminuição no fenômeno da peroxidação lipídica (LP) entre os hipertensos, já que a presença do MDA (o aldeído reativo mais abundante de PL) no soro desses indivíduos era menor do que no soro dos controles (Tabela 3). A presença de grupos carbonila em níveis semelhantes, nesse caso, pode reforçar a premissa de que se o grupo de hipertensos estivesse em estresse oxidativo, o $ONOO^-$ seria a espécie reativa prevalente, uma vez que ele é um indutor fraco de proteínas carbonila³⁷. Cabe ressaltar que, na escolha do marcador do estresse oxidativo, a natureza do estresse oxidativo em estudo desempenha uma função de extrema importância. No entanto, a metodologia disponível e a viabilidade da aplicação de técnicas analíticas são de igual importância, e foram particularmente determinantes nas escolhas deste estudo.

Diversos estudos constataram uma correlação positiva entre níveis elevados de MDA e as doenças cardiovasculares, como o infarto agudo do miocárdio, a insuficiência cardíaca congestiva e a hipertensão²⁹⁻³¹ em hipertensos sem terapia farmacológica¹⁸ e em hipertensos idosos utilizando medicação anti-hipertensiva³². Por sua vez, estudos envolvendo hipertensos que nunca foram tratados³³ e hipertensos tratados^{23,34} não constataram diferenças entre hipertensos e controles nos níveis de F_2 -isoprostano, um outro marcador de peroxidação lipídica, a despeito da ação antioxidante dos medicamentos anti-hipertensivos. No entanto, outro estudo encontrou uma correlação positiva entre esse marcador de dano e marcadores de inflamação em hipertensos ainda não submetidos à terapia farmacológica³⁵. Os pacientes com insuficiência cardíaca congestiva de classe II a classe IV mostraram níveis diminuídos de MDA³⁶. Os resultados indicam a possível associação entre mecanismos de proteína de LP, tais como GPx e CER, que foram encontrados em níveis elevados.

É importante ressaltar que, na população do estudo, um viés existente era o uso de medicação. Entretanto, a terapia farmacológica anti-hipertensiva (em especial medicações bloqueadoras de canais de cálcio e inibidores da ECA) produz um aumento significativo do $*NO$, mas os níveis de enzimas antioxidantes permanecem baixos quando comparados a

normotensos¹⁷. Outro aspecto significativo é a possibilidade de o CER de inibir a oxidação de proteínas, o que foi verificado em uma cultura de células endoteliais, por meio da formação de carbonila na presença de ceruloplasmina³⁸.

O fenômeno do estresse oxidativo, bem como o sistema antioxidante funcionam de forma integrada, com uma série de eventos relacionados. Essa característica e a complexidade desses processos necessariamente exigem uma discussão não individualizada. Além disso, é preciso ter em mente a dualidade do ambiente de reações de oxidação e redução: níveis elevados de antioxidantes não são necessariamente desejáveis, e níveis baixos de antioxidantes, indesejáveis, uma vez que os dois podem resultar em estresse oxidativo.

Embora não seja claro se o estresse oxidativo na hipertensão é uma causa ou um efeito, a ocorrência de estresse oxidativo na hipertensão foi verificada neste estudo, corroborando as constatações publicadas anteriormente.

A função do estresse oxidativo na hipertensão já está clara e bem fundamentada. No entanto, embora vários estudos apontem para a disfunção endotelial e para o desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e para as defesas antioxidantes, não é possível definir se o desequilíbrio em reações de redução e oxidação é uma causa ou uma consequência da homeostase da pressão arterial. Este estudo revelou estresse oxidativo na hipertensão. Não obstante, são necessários estudos adicionais para elucidar os mecanismos que levam a sua gênese e de outras situações clínicas caracterizadas por disfunção endotelial envolvendo desequilíbrio em reações de redução e oxidação. Desse modo, nosso grupo de pesquisa está atualmente desenvolvendo estudos sobre os biomarcadores do desequilíbrio em reações de redução e oxidação em pacientes com síndrome metabólica, hipertensão refratária e diabetes melito que, como a hipertensão, são doenças cujo denominador comum é a disfunção endotelial.

Conclusão

Por fim, pode-se concluir que, com relação a antioxidantes e marcadores de dano oxidativo, os níveis de CAT e GSH diminuídos e os níveis elevados de ceruloplasmina encontrados em pacientes hipertensos indicam que eles se encontram em estresse oxidativo, a despeito do possível efeito atenuante de sua medicação anti-hipertensiva. Níveis altos de GPx e MDA também podem advir do estresse oxidativo, uma vez que (1) a enzima estaria sujeita a uma maior demanda na presença de $ONOO^-$ em excesso, uma espécie reativa característica da hipertensão, e (2) devido à sua ação significativa no ROO^- , haveria uma diminuição na peroxidação lipídica, com a consequente redução de MDA. Assim, o estresse oxidativo da hipertensão, no que concerne a esses biomarcadores, seria explicado por um mecanismo alternativo.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos pacientes e voluntários que participaram deste estudo de maneira tão prestimosa.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pela FAPEAL, CNPq, CAPES, CAPES/COFECUB, CNPq/PADCT, BNB e FAPEAL/SESAU-AL, MS/DECIT-PPSUS.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de Doutorado de Sandra Mary Lima Vasconcelos pela Universidade Federal de Alagoas com análise de biomarcadores redox em parceria com a Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Referências

1. Sociedade Brasileira de Cardiologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Rev Hipertens*. 2010;17(1):1-66.
2. Touyz RM. Oxidative stress and vascular damage in hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2000;2(1):98-105.
3. Griendling KK, Fitzgerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation*. 2003;108(16):1912-6.
4. Griendling KK, Fitzgerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part II: animal and humans studies. *Circulation*. 2003;108(17):2034-40.
5. Touyz RM. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension. What is the clinical significance? *Hypertension*. 2004;44(3):248-52.
6. Touyz RM, Schiffrin EL. Reactive oxygen species in vascular biology: implications in hypertension. *Histochem Cell Biol*. 2004;122(4):339-52.
7. Portaluppi F, Boari B, Manfredini R. Oxidative stress in essential hypertension. *Curr Pharm Design*. 2004;10(14):1695-8.
8. Sampaio WO, Santos RAS. Aplicações clínicas dos mecanismos fisiopatológicos da hipertensão arterial. Sistema renina-angiotensina: bases fisiopatológicas. *Rev Bras Hipertens*. 2004;11:67-70.
9. Paravicini TM, Touyz RM. Redox signaling in hypertension. *Cardiovasc Res*. 2006;71(2):247-58.
10. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radical in biology and medicine*. 4 ed. Oxford: Oxford University Press; 2007.
11. Vasconcelos SML, Goulart MOF, Silva MAM, Gomes ACM. Hipótese oxidativa da hipertensão arterial: uma mini-revisão. *Rev Bras Hipertens*. 2004;14:269-74.
12. Kuklinska AM, Mroczko B, Muzial WJ, Usowicz-Szarynska M, Borowska H, Knapp M, et al. Diagnostics biomarkers of essential hypertension: the value of prostacyclin, nitric oxide, oxidize-LDL, and peroxide measurements. *Int Heart J*. 2009;50(3):341-51.
13. Pinho RA, Araujo MC, Ghisi GLM, Benetti M. Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. *Arq Bras Cardiol*. 2010;94(4):549-55.
14. Vasconcelos SML, Goulart MOFG, Moura JBF, Manfredini V, Benfato MS, Kubota LT. Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, antioxidantes e marcadores de estresse oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quim Nova*. 2007;30:1323-38.
15. Trevisan M, Brown R, Ram M, Muti P, Freudenheim J, Carosella AM, et al. Correlates of markers of oxidative status in the general population. *Am J Epidemiol*. 2001;154(4):348-56.
16. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular disease: the role of oxidant stress *Circ Res*. 2000;87(10):840-4.
17. Khullar J, Relan V, Sherawat BS. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension*. 2004;43(2):e7-8.
18. Rédon J, Oliva MR, Tormo C, Giner V, Chaves J, Iradi A, et al. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension*. 2003;41(5):1096-101.
19. Pedro-Botet J, Covas MI, Martin S, Rubies-Prat J. Decrease endogenous antioxidant enzymatic status in essential hypertension. *J Hum Hypertens*. 2000;14(6):343-5.
20. Ide T, Tsutsui H, Ohashi N, Hayashidani S, Suematsu N, Tsuchihashi M, et al. Greater oxidative stress in healthy young men compared with premenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(3):438-42.
21. Kalinowski L, Dobrucki L, Szczepanska-Konkel W, Jankowski M, Martyniec L, Angielski S, et al. Third-generation beta-blockers stimulate nitric oxide release from endothelial cells through ATP efflux: a novel mechanism for antihypertensive action. *Circulation*. 2003;107(21):2747-52.
22. Berkels R, Egink G, Marsen TA, Bartels H, Roosen R, Klaus W. Nifedipine increases endothelial nitric oxide bioavailability by antioxidative mechanisms. *Hypertension*. 2001;37(2):240-5.
23. Ward NC, Hodgson JM, Puddey IB, Mori TA, Beilin LJ, Croft D. Oxidative stress in human hypertension: association with antihypertensive treatment, gender, nutrition, and lifestyle. *Free Radic Biol Med*. 2004;36(2):226-32.
24. Sáez GT, Tormos C, Giner V, Chaves J, Lozano JV, Iradi A, et al. Factors related to the impact of antihypertensive treatment in antioxidant activities and oxidative stress by-products in human hypertension. *Am J Hypertens*. 2004;17(9):809-16.
25. Skalska A, Gasowski J, Stepniewski M, Grodzki T. Antioxidative protection in hypertensive patients treated with diuretics. *Am J Hypertens*. 2005;18(8):1130-2.
26. Johnson RJ, Rodriguez-Iturbe B, Kang DH, Feig DI, Herrera-Acosta J. A unifying pathway for essential hypertension. *Am J Hypertens*. 2005;18(3):431-40.
27. Shukla N, Maher J, Masters J, Angelini GD, Jeremy JY. Does oxidative stress change ceruloplasmin from a prospective to a vasculopathic factor? *Atherosclerosis*. 2006;187(2):238-50.
28. Fox PL, Mazumder B, Ehrenwald E. Ceruloplasmin and cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med*. 2000;28(12):1735-44.
29. Pucheu S, Coudray C, Vanazetto G, Favier A, Machecourt J, De Leiris J. Assessment of radical activity during the acute phase of myocardial infarction following fibrinolysis: utility of assaying plasma malondialdehyde. *Free Radic Biol Med*. 1995;19(6):873-81.
30. Diaz-Vélez CR, Garcia-Castiñeiras S, Mendoza-Ramos E, Hernández-López E. Increased malondialdehyde in peripheral blood of patients with congestive heart failure. *Am Heart J*. 1996;131(1):146-52.
31. Ghiadoni L, Magaga A, Versari D, Kardasz I, Huang Y, Taddei S, et al. Different effect of antihypertensive drugs on conduit artery endothelial function. *Hypertension*. 2003;41(6):1281-6.
32. Kedziora-Kornatowska K, Czuczejko J, Pawluk H, Kornatowski T, Motyl J, Szadujkis-Szadurski L, et al. The markers of oxidative stress and activity of the antioxidant system in the blood of elderly patients with essential arterial hypertension. *Cell Mol Biol Lett*. 2004;9(4A):635-41.
33. Cracowski JL, Baguet JP, Ormezzano O, Bessard J, Stanke-Labesque F, Bessard G, et al. Lipid peroxidation is not increased in patients with untreated mild-to-moderate hypertension. *Hypertension*. 2003;41(2):286-8.
34. Minuz P, Patrignani P, Gaiuso S, Degan M, Menapace L, Tommasoli R, et al. Increased oxidative stress and platelet activation in patients with hypertension and renovascular disease *Circulation*. 2002;106(22):2800-5.
35. Cottone S, Mulè G, Nardi E, Vadalà A, Guarneri M, Briolotta C, et al. Relation of C-reactive protein to oxidative stress and to endothelial activation in essential hypertension.36. Sundal S, Sharma M, Negi PC, Katoch SS. Oxidative stress and antioxidant profile in patients of heart failure. *Asian J Exp Sci*. 2005;19:41-58.
37. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev*. 2000;32(3-4):307-26.
38. Ksek-Staples JA, Webster RO. Ceruloplasmin inhibits carbonyl formation in endogenous cell proteins. *Free Radic Biol Med*. 1993;14(2):115-25.