

AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO DE PACIENTES PORTADORES DA DOENÇA DE CROHN DO AMBULATÓRIO DE DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO HU- UFPI

Urias Silva Vasconcelos - Bolsista do PIBIC (UFPI), José Miguel Luz Parente - Colaborador (HU), Thiago Amorim Neves Reis - Colaborador (UFPI), Ayres Fran Silva e Silva - Co-orientador (UFPI), Regina Célia de Assis - Orientadora, Depto de Bioquímica (UFPI)

Introdução: Dentre os diversos fatores relacionados com a patogênese das doenças inflamatórias intestinais (DII) cuja etiologia não está elucidada, o estresse oxidativo ocupa um lugar de destaque na comunidade científica pela sua considerável presença em pacientes com Retocolite Ulcerativa Idiopática (RCUI) e Doença de Crohn (DC)^{1,2,3}. Os principais radicais livres de oxigênio conhecidos são: singlet de O₂, hidroxila (HO[•]), superóxido (O₂^{•-}) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Uma das principais formas de detectar o estresse oxidativo é através da determinação dos níveis dos produtos finais da peroxidação lipídica resultante do desequilíbrio entre agentes pró e antioxidantes, agindo principalmente na membrana lipídica das células^{4, 5}. Vários estudos mostraram que em pacientes com doença de Crohn, os níveis plasmáticos dos produtos finais da peroxidação lipídica, tais como Malonildialdeído (MDA), Hidroperóxidos lipídicos, são mais elevados em comparação com os pacientes sem Crohn^{2,3,4,7}. Porém, a dosagem H₂O₂ é utilizada como um importante parâmetro bioquímico para avaliar o grau de estresse oxidativo^{4, 7}. **Objetivo:** determinar a concentração de H₂O₂ em plasma para avaliar o grau de estresse oxidativo em pacientes com Doença de Crohn do HU-UFPI. **Metodologia:** estudo de caráter transversal e comparativo. Foram realizados questionários e medidas antropométricas: circunferência abdominal, pressão arterial, peso e altura. Os níveis plasmáticos de peróxido de hidrogênio H₂O₂ foram dosados pelo método FOX2 e os componentes do perfil lipídico foram dosados por método colorimétrico enzimático (Labtest®). O nível de LDL-c foi calculado segundo a fórmula de Friedewald: LDL= CT- (HDL + TG/5), para TG<400 mg/dL. Os parâmetros do estudo foram analisados estatisticamente por meio da correlação de Pearson considerando o nível de significância de 5% (p< 0,05). Na análise estatística foram utilizados a frequência, a média, o desvio padrão e o intervalo de confiança. **Resultados e discussão:** a amostra foi constituída por 22 participantes. De acordo com a tabela 01 as médias das idades dos grupos controle e caso foram 22,73±9,46 e 43,00±18,00 anos, respectivamente, apresentando diferença significativa (p=0,004), as médias da PAS e PAD não apresentaram diferença estatística entre os grupos que tiveram as mesmas porcentagens de indivíduos do sexo masculino (54,5%) e feminino (45,5%). Nenhum dos indivíduos fumava nem usavam droga ilícita e 45,5% ingeriam bebida alcoólica. Tais fatores exógenos podem precipitar ou alterar o estado de estresse oxidativo^{8, 9}.

Nos indivíduos do sexo masculino no grupo controle e caso, houve diferença significativa entre as médias de circunferência abdominal (Tabela 02). As médias do IMC não apresentaram diferença estatística entre os grupos. A média do CDAI foi 156,5±149,44 (tabela 02). Apesar de a média ter dado maior que 150, apenas 3 (8,4%) dos pacientes com doença de Crohn tiveram o CDAI ≥ ou = a 150 indicando que a doença estava em sua fase ativa.

Tabela 01

Caracterização da amostra total conforme os grupos controle e Doença de Crohn. Teresina-PI, 2011.

	GRUPOS	
	Controle	Doença de Crohn
Sexo		
Masculino	54,5%	54,5%
Feminino	45,5%	45,5%
Renda Familiar Mensal		
300,01-900,00	27,3%	63,6%
900,01-1500,00	9,1%	9,1%
1500,01-3000,00	27,3%	27,3%
≥ 3000,00	36,4%	0,0%
Escolaridade		
Analfabeto	0,0%	9,1%
Ensino infantil	0,0%	9,1%
Ensino fundamental	0,0%	27,3%
Ensino médio	9,1%	36,4%
Ensino superior	81,8%	9,1%
Pós-graduação	9,1%	9,1%
Fumantes		
Fumantes	0,0%	0,0%
Ex-fumante	0,0%	9,1%
Não-fumante	0,0%	90,9%
Ingere bebida alcoólica		
Ingere bebida alcoólica	36,4%	9,1%
Não ingere bebida alcoólica	63,6%	63,6%
Deixou de beber	0,0%	27,3%

Fonte: UFPI.

Nas dosagens dos componentes do perfil lipídico da amostra, foram encontrados valores considerados normais de acordo com as III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias. Foi encontrada uma diferença estatística entre o colesterol total ($p=0,006$) e o LDL-colesterol ($p=0,003$) entre os grupos (Tabela 02). O LDL-colesterol do grupo controle teve uma correlação positiva com o nível de peróxido de hidrogênio encontrado nesta mesma amostra. Já no grupo caso, não houve correlação significativa dos componentes do perfil lipídico com a concentração de peróxido de hidrogênio (tabela 03).

Tabela 02

Média e desvio-padrão dos parâmetros analisados estratificados por grupo. Teresina-PI, 2011.

	Controle	Doença de Crohn	p
Idade	22,73± 9,46	43,00±18,00	0,004*
PAS ¹ (mmHg)	121,00±14,13	109,45±38,88	0,366
PAD ² (mmHg)	76,18±8,96	71,91±10,30	0,314
Circunferência abdominal homem (cm)	85,25±5,06	71,83±9,15	0,010*
Circunferência abdominal mulher (cm)	85,20±9,34	82,67±11,82	0,828
IMC ³ (Kg/m ²)	24,57±2,36	21,83±3,83	0,057
IADC ⁴	-	156,5±149,44	-
Colesterol total (mg/dL)	99,57±21,45	137,70±35,45	0,006*
HDL-colesterol (mg/dL)	48,66±19,66	42,02±15,13	0,385
Triglicerídeos (mg/dL)	71,13±40,27	95,12±48,13	0,219
LDL-colesterol (mg/dL)	43,13±23,05	78,42±23,76	0,003*
H ₂ O ₂ (µM/L)	0,53±0,34	0,99±0,32	0,005*

Fonte: UFPI. ¹Pressão arterial sistólica; ²Pressão arterial diastólica; ³Índice de massa corporal; ⁴Índice de atividade da doença de Crohn.*correlação significativa para $p<0,05$.

Tabela 03

Associação entre perfil lipídico e a concentração de peróxido de hidrogênio H₂O₂. Teresina-PI, 2011.

Grupo controle				
Componentes	CT (mgdL ⁻¹)	HDL-c (mgdL ⁻¹)	LDL-c (mgdL ⁻¹)	TG (mgdL ⁻¹)
	99,57±21,45	48,66±19,66	43,13±23,05	71,13±40,27
H ₂ O ₂ (µmolL ⁻¹) 0,53±0,34	0,221	0,056	0,014*	0,230
Grupo caso				
Componentes	CT (mgdL ⁻¹)	HDL-c (mgdL ⁻¹)	LDL-c (mgdL ⁻¹)	TG (mgdL ⁻¹)
	137,70±35,45	42,02±15,13	95,12±48,13	78,42±23,76

H ₂ O ₂ (μmolL ⁻¹)				
0,99±0,32	0,451	0,762	0,458	0,410

Fonte: Laboratório de Bioquímica da UFPI. *correlação significativa para p<0,05.

De acordo com a figura 01, a média das absorvâncias das amostras sem TPP no grupo caso foi maior que a do grupo controle, indicando uma quantidade mais elevada de peróxidos lipídicos no plasma. Quanto à média da absorvância de peróxido de hidrogênio em plasma (média das amostras sem TPP - média das amostras com TPP), verificou-se que o grupo caso teve uma média maior comparado ao grupo controle. A partir destes resultados, pode-se concluir que os voluntários acometidos pela doença de Crohn apresentaram um nível de H₂O₂ maior. Na tabela 02, observa-se que o nível peróxido de hidrogênio encontrado foi maior nos pacientes com doença de Crohn do que no grupo controle apresentando valor de p (p=0, 005) estatisticamente significativa.

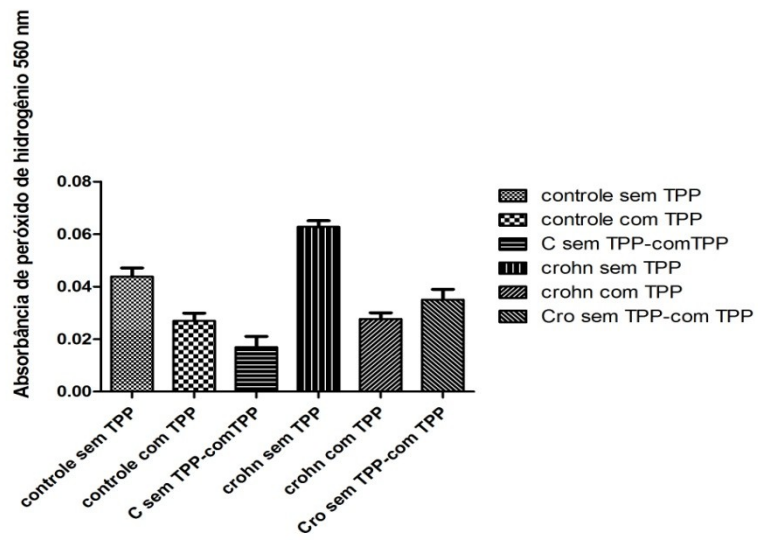


Figura 01. Detecção de peróxido de hidrogênio em plasma sanguíneo nos grupos controle e caso. Fonte: UFPI

Os achados desta pesquisa confirmam os resultados de trabalhos anteriores publicados que demonstraram que pacientes com Doença de Crohn independente do estágio da doença (ativa ou em remissão) tiveram níveis maiores de peróxidos lipídicos e MDA comparado com pacientes com a doença em remissão e controle^{4,2,10}. Apesar de não ter sido realizado dosagem de MDA nesta pesquisa, o mesmo está explícito para reforçar a presença de estresse oxidativo nestes pacientes. Outro estudo mostrou em homogeneizados de mucosa de pacientes com DII um aumento da atividade da enzima catalase (CAT) associada à inflamação em comparação com a mucosa normal do grupo controle⁴. Pode-se inferir diante destes resultados que estes pacientes sofrem constantemente os efeitos do estresse oxidativo devido ao aumento da concentração de peróxido de hidrogênio no plasma e possivelmente alteração de função de

enzimas antioxidantes que não são capazes de manter um nível adequado de ERO para a célula. **Conclusão:** A concentração de peróxido de hidrogênio encontrada em pacientes com Doença de Crohn indicando a presença de estresse oxidativo. O H₂O₂ correlacionou-se o LDL-c do grupo controle, mas não com o perfil lipídico do grupo caso.

Palavras-chave: Estresse Oxidativo. Doença de Crohn. Peróxido de Hidrogênio.

Referências bibliográficas:

1. SANTANA, A. T.; ARAYA, M. M. Estrés oxidativo, prooxidantes e enfermedad de Crohn. **Rev. Med. Chile**, p.95-100, abr. 2006.
2. ALZOGHAIBI, M. A.; MOFLEH, I. A.; AL-JEBREEN, A. A. Lipid peroxides in patients with inflammatory bowel disease. **Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 4, p. 187-190, oct. 2007.
3. KRUIDENIER, L.; KUIPER, I., et al. Imbalanced secondary mucosal antioxidant response in inflammatory bowel disease. **Journal of Pathology**, v. 201, n. 1, p.17-27, 2003b.
4. KRUIDENIER, L.; KUIPER, I., et al. Intestinal oxidative damage in inflammatory bowel disease: semi-quantification, localization, and association with mucosal antioxidants. **Journal of Pathology**, v. 201, p. 28–36, 2003a.
5. LIMA, É.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.37, n.3. 2001.
6. FERREIRA A. L. A.; MATSUBARA L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Ass. Med. Brasil**, v.43, n.1, p.61-68, 1997.
7. LIMA, É.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.37, n.3. 2001.
8. BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores moduladores. **Rev. Nutri.**, Campinas, v.23, n.4, p.629-643, jul./ago. 2010.
9. CORONHO, V. et al. **Tratado de endocrinologia e cirurgia endócrina**. Guanabara Koogan, 2001, p.127-140. cap. 15.
10. [MAOR, I.](#), et al. Oxidative stress, inflammation and neutrophil superoxide release in patients with Crohn's disease: distinction between active and non-active disease. **Dig. Dis. Sci.** v.53, n.8, aug. 2008.