

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM AMOSTRAS DE PORTADORES DE SINDROME DE DOWN

BRUNA MATTOS¹, Gabriela Debom², Tatiana Morgana da Silva², Francieli Stefanello², Roselia Maria Spanevello³

¹Universidade Federal de Pelotas, Curso de Farmácia – bruna.mtt@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – gabidebom@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – rspanevello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A síndrome de Down (SD) também conhecida como Trissomia do 21 é desordem genética causada pela ocorrência de três cromossomas 21, na sua totalidade ou de uma porção fundamental dele. Esta síndrome constitui uma das causas mais frequentes de deficiência mental e tem incidência diretamente proporcional à idade materna (WISEMAN et al., 2009).

O estresse oxidativo é caracterizado por um desequilíbrio entre os níveis de espécies reativas e a capacidade antioxidante celular (HALLIWELL, 2011). O aumento de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio pode causar danos à estrutura de biomoléculas como DNA, lipídios e proteínas podendo assim alterar a funcionalidade de células, tecidos e órgãos (HALLIWELL, 2011). A suscetibilidade das células ao dano oxidativo depende do estado da sua defesa antioxidante, a qual é formada por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. A defesa antioxidante enzimática é representada principalmente pela superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, enquanto as defesas antioxidantes não enzimáticas incluem as vitaminas C e E dentre outros compostos (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

Vários estudos tem sugerido que o estresse oxidativo possui um papel nas complicações associadas com a SD (SINHA, 2005; GARLET et al., 2013). Um aumento nos níveis de peroxidação lipídica, carbonilação proteica bem como danos ao DNA já foram observados em amostras de portadores de SD (CASADO et al., 2007; ZANA et al., 2006). Além disso, um aumento na atividade da enzima superóxido dismutase parece ser um dos principais fatores associados ao aumento de estresse oxidativo encontrado nesses indivíduos (TURRENS, 2001).

Neste contexto, embora trabalhos da literatura tenham demonstrado a associação do estresse oxidativo e a SD, muitos destes estudos são realizados com crianças e os dados apresentados são controversos. Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar parâmetros de estresse oxidativo em amostras de indivíduos adultos portadores de SD.

2. METODOLOGIA

2.1 População e coleta das amostras:

Neste estudo foram avaliados 28 indivíduos adultos portadores de SD e 28 indivíduos saudáveis adultos como grupo controle, todos residentes da cidade de Pelotas/RS. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pelotas. As amostras de sangue foram coletadas somente após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e

Esclarecido pelos indivíduos do grupo controle bem como pelos responsáveis dos portadores de SD. Foram coletados de cada indivíduo 3 ml de sangue por punção venosa sendo que uma parte do sangue foi coletado sem anticoagulante para a obtenção do soro.

2.2 Avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo:

A determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi realizada em soro pelo método de ESTERBAUER & CHEESEMAN (1990), o qual mede a formação de malondialdeído (produto da peroxidação lipídica). Quando aquecida em presença de ácido tiobarbitúrico, essa substância forma um composto corado que é medido espectrofotometricamente em 532 nm. Os resultados foram expressos como nmol de TBARS/mg proteína.

A medida do conteúdo tiólico total foi realizada em soro pelo método de AKSENOV & MARKESBERY (2001), o qual se baseia na redução do ácido ditionitrobenzóico (DTNB) por tióis, gerando um derivado amarelo (TNB) que é mensurado espectrofotometricamente em 412 nm. Os resultados foram expressos em nmol TNB/mg de proteína.

A atividade da enzima catalase foi realizada no sangue pelo método descrito por NELSON & KIESOW (1972), baseado na decomposição de H_2O_2 , medido a 240 nm, sendo os resultados expressos em pmol/mg de proteína. A atividade da enzima superóxido dismutase também foi realizada em sangue pelo método de MC CORD & FRIDOVICH (1969) onde uma unidade de atividade de superóxido dismutase é definida como a quantidade de enzima necessária para reduzir a velocidade da reação em 50%. Os resultados foram expressos em unidades de SOD/mg proteína.

2.3 Análise estatística:

Os dados foram analisados pelo programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), através do teste t de Student. A diferença entre os grupos foi considerada significativa quando $P < 0.05$. Todos os dados foram expressos como média \pm erro padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que os níveis de TBARS e o conteúdo tiólico total foram diminuídos em amostras de soro de portadores de SD quando comparado com o grupo controle ($P < 0.05$) (Figura 1 e 2).

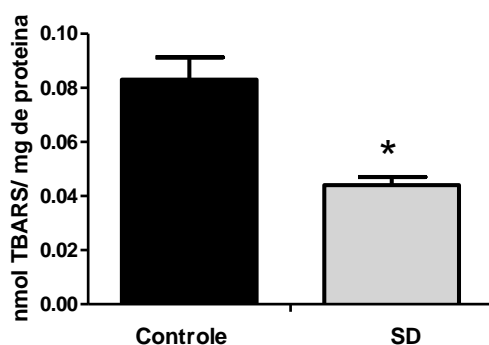


Figura 1: Peroxidação lipídica em amostras de soro de portadores de Síndrome de Down (SD) e grupo controle. *Diferente do controle ($P < 0,05$) (n=28).

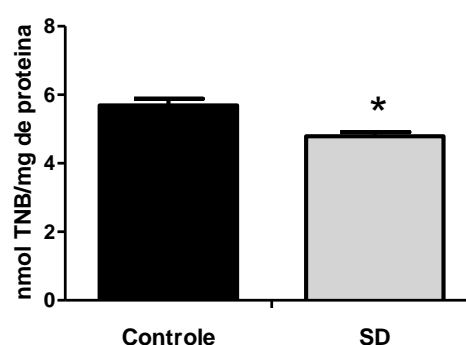


Figura 2: Conteúdo tiólico total em amostras de soro de portadores de Síndrome de Down (SD) e grupo controle. *Diferente do controle ($P < 0,05$) (n=28).

Em relação às enzimas antioxidantes os resultados obtidos demonstraram um aumento significativo na atividade da catalase e da superóxido dismutase em sangue total de portadores de SD quando comparado a indivíduos saudáveis. ($P < 0.05$) (Figura 3 e 4).

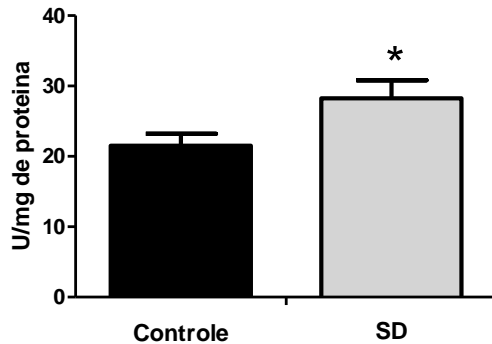


Figura 3: Atividade da enzima superóxido dismutase em amostras de sangue total de portadores de Síndrome de Down (SD) e grupo controle. *Diferente do controle ($P < 0,05$) (n=28).

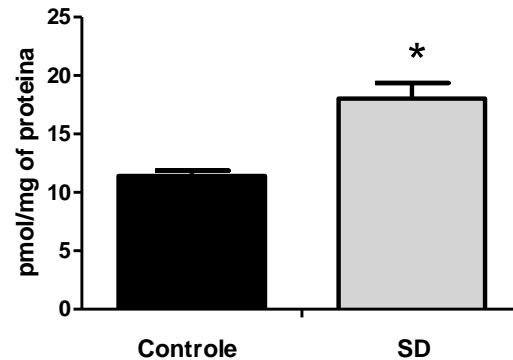


Figura 4: Atividade da enzima catalase em amostras de sangue total de portadores de Síndrome de Down (SD) e grupo controle. *Diferente do controle ($P < 0,05$) (n=28).

O cromossomo 21 contém o gene que codifica para a enzima antioxidante superóxido dismutase, em função disso é esperado um aumento na atividade dessa enzima em portadores de SD (TURRENS, 2001). A superóxido dismutase é uma metaloenzima abundante nas células sendo responsável pela reação de dismutação do radical $O_2^{\cdot -}$ em H_2O_2 e O_2 . A enzima catalase catalisa a reação conversão do H_2O_2 à H_2O e O_2 (HALLIWELL, 2001). Um aumento na atividade da superóxido dismutase pode levar a um acúmulo de H_2O_2 que se não acompanhado pelo aumento da catalase pode acarretar em vários danos a biomoléculas. Nesse sentido, em relação aos resultados desse estudo pode-se sugerir que o aumento da catalase bem como a diminuição do conteúdo tiólico pode ser um mecanismo compensatório para reduzir os níveis de H_2O_2 gerados pela enzima superóxido dismutase.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstraram alterações em parâmetros de estresse oxidativo em amostras de adultos com SD. A modulação das enzimas antioxidantes bem como a diminuição da peroxidação lipídica sugere a presença de mecanismos compensatórios funcionais frente ao aumento de estresse oxidativo associado a esta desordem genética.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSENOV, M.Y.; MARKESBERY, W.R. Change in thiol content and expression of glutathione redox system gene in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**. v. 302, n.2, p.141-145, 2001.

CASADO, A.; LOPEZ-FERNANDEZ, E.; RUIZ, R. Lipid peroxidation in Down syndrome caused by regular trisomy 21 robertsonian and mosaic trisomy 21. **Clinical Chemical Laboratory Medicine**, v.45, n.1, p.59-56, 2007.

ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K.H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**. v. 186, n.1, p. 407-421, 1990.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista de Associação Médica Brasileira** v. 43, p. 61-68, 1997.

GARLET R.; PARISOTTO E. B.; MEDEIROS G. S. (2013). Systemic oxidative stress in children and teenagers with Down syndrome. **Life Sciences**. v. 93, n.16, p. 558–563, 2013.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants – quo vadis? **Trends in Pharmacological Sciences**. v. 32, n. 3, p. 125-130, 2011.

Mc CORD, J.M.; FRIDOVICH, I. Superoxide Dismutase: an enzymatic function for erythrocyte (hemocuprein). **Journal of Biological Chemistry**. v. 244, p. 6049-6055, 1969.

NELSON, D.P.; KIESOW, L.A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 –C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). **Analytical Biochemistry** v.49, n.2, p. 474-478, 1972.

SINHA S. Anti-oxidant gene expression imbalance, aging and Down syndrome. **Life Sciences**. v. 76, n.12, p.1407–1426, 2005.

TURRENS, J.F. Increased superoxide dismutase and Down's syndrome. **Medical Hypothesis**, v. 36, n.6, p. 617-619, 2001.

WISEMAN, F.K.; ALFORD, K.A.; TYBULEWICZ, V.L.J.; FISHER, E.M.C.. Down syndrome-recent progress and future prospects. **Human Molecular Genetics**, v. 18, n.1, p.75-83, 2009.

ZANA, M.; SZECSENKI A.; CZIBULA, A.; BJELIK, A.; JUHASZ A. Age dependent oxidative stress induced DNA damage in Down's lymphocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.345, n.2, p.726-733, 2006.