

Estresse Oxidativo e Testosterona em Indivíduos com Doença Arterial Coronariana e Distúrbios Respiratórios do Sono

Tássia M. Medeiros¹, Fernanda S. Hackenhaar^{1,2}, Cristini Klein³, Denis Martinez³, Marco Wainstein³, Rodrigo Wainstein³, Sandro C. Gonsalves³, Mara S. Benfato².

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul;

²Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul;

³Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

tassia.medeiros@ufrgs.br

Introdução

Distúrbios Respiratórios do Sono (DRS) são considerados fatores de risco independentes para Doenças Cardiovasculares. Episódios de hipóxia e reoxigenação, conseqüentes dos DRS, geram Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e de Nitrogênio (ERN), podendo causar dano arterial e desencadear processos de sinalização celular envolvidos com a fisiopatologia da Doença Arterial Coronariana (DAC), incluindo vias inflamatórias, de estresse oxidativo e de metabolismo do ferro. Existem dados controversos sobre a relação entre hormônios andrógenos e os DRS. Os hormônios esteróides estão envolvidos na sinalização e no estresse oxidativo. A testosterona é sugerida como um pró-oxidante e possui relação tanto com estresse oxidativo quanto com o metabolismo do ferro.

Objetivo

Analisar diversos parâmetros de estresse oxidativo, bem como os níveis hormonais de testosterona, para aumentar a compreensão sobre a associação entre DRS e DAC.

Materiais e Métodos

Indivíduos: Entre março de 2007 e fevereiro de 2008, na Unidade de Hemodinâmica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), foram triados 506 indivíduos. Destes, foram incluídos no estudo 56 pacientes com suspeita de DAC submetidos à angiografia coronariana. Foram excluídos os tabagistas, diabéticos, com idade inferior a 35 anos e superior a 65 anos, que faziam uso de ansiolíticos e suplemento vitamínico.

Índice de apnéia-hipopnéia (IAH): Verificado por meio de polissonografia portátil (Apnéias + hipopnéias / horas de sono).

Determinação da DAC: Pacientes foram submetidos a angiografia e divididos em dois grupos, com DAC significativa aqueles com mais de 30% de oclusão de uma ou mais coronárias e sem DAC aqueles com menos de 30%.

Ensaio:

-**Ferro e Testosterona total:** determinados por técnicas clínicas convencionais de análise do Laboratório de Análises do HCPA.

-**Glutathiona reduzida (GSH) e Glutathiona oxidada (GSSG):** mensuradas em eritrócitos lisados através de ensaio colorimétrico em microplaca,¹ utilizando-se glutathiona redutase, 5,5-ditiobis(ácido 2-nitrobenzoico)(DTNB) e N-etilmaleimida (bloqueador de GSH), e através de cálculos foi obtida as concentrações de glutathiona total, GSSG e GSH.²

-**Glutathiona-S-transferase (GsT):** determinada por ensaio colorimétrico pela formação de conjugado entre o composto 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) e a GSH pela enzima, formando S-(2,4-dinitrofenil)-glutathiona.³

-**Nitritos e nitratos:** determina indiretamente a concentração de óxido nítrico (NO[•]), mensurado por ensaio colorimétrico, por meio da reação de Griess.⁴

-**Vitamina C:** mensurada através de cromatografia líquida de alta pressão (HPLC).⁵

Análise Estatística: Teste-t foi utilizado para comparação entre dois grupos, correlação de Pearson e Spearman para verificar associação entre as variáveis e análise de regressão linear foi empregada para verificar a associação entre as correlações.

Resultados

Tabela 1. Comparação entre indivíduos com DAC e sem DAC

	Sem DAC (n=29)	Com DAC (n=27)	Significância estatística
IAH (apnéias-hipopnéias/h)	11,41 ± 2,04	23,56 ± 2,79	p<0,05
Idade (anos)	51,62 ± 1,28	56,96 ± 1,11	p<0,05
Sexo (homens)	12	19	
IMC (Kg/m ²)	27,3 ± 3,99	27,79 ± 3,77	Sem sig.
NO [•] erit. (nmol NaNO ₂ /mgHb)	0,75 ± 0,04	0,62 ± 0,04	p<0,05

*Teste-t para amostras independentes

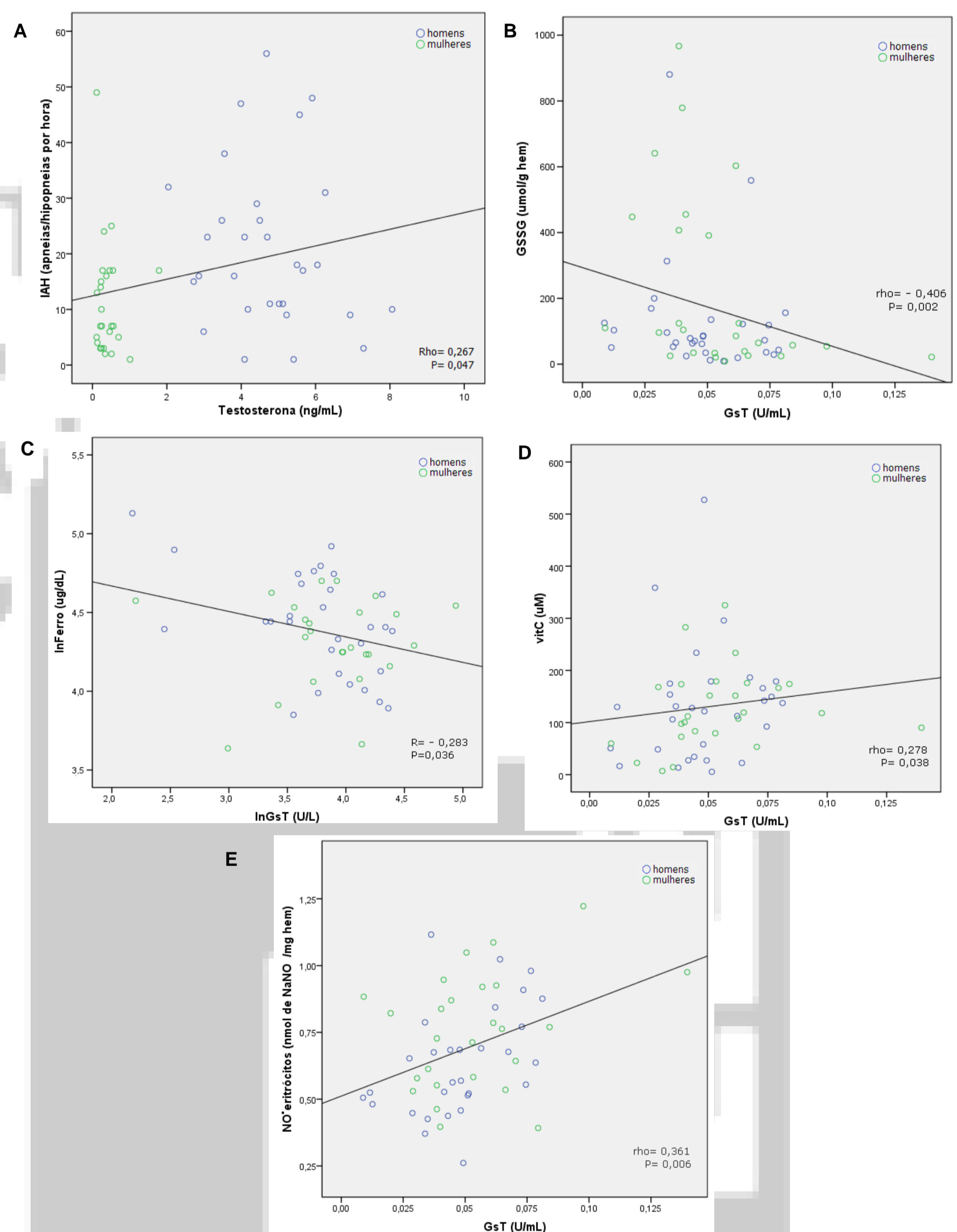


Figura 1. Distribuição do IAH vs. testosterona (A) ($\rho=0.267$, $p<0.05$), GSSH vs. GsT (B) ($\rho=-0.406$, $p<0.05$), Ferro vs. GsT (C) ($\rho=-0.283$, $p<0.05$), vitamina C vs. GsT (D) ($\rho=0.278$, $p<0.05$), e NO vs. GsT (E) ($\rho=0.361$, $p=0.006$), pela correlação de Spearman. Os homens estão representado por círculos azuis e as mulheres por círculos verdes.

Tabela 2. Regressão linear *stepwise* como modelo para predição da atividade de GsT (InGsT)

Preditores	β	P
R² = 0,304		
NO [•] erit. (nmol NaNO ₂ /mgHb)	0,613	0,055
In GSSG (umol/g Hb)	-0,206	0,004
In Fe (ug/dL)	-0,587	0,012
In GSH (umol/g Hb)	0,160	0,048

Discussão

Apesar de haver correlação entre o vasodilatador NO[•] e a atividade da GsT, a regressão não teve significância quando os parâmetros GSH, GSSG e ferro foram incluídos no modelo, sugerindo que ferro e glutathiona estão influenciando a atividade da GsT. A correlação entre IAH e testosterona pode estar relacionada ao fato dos pacientes com apnéia do sono mais grave serem do sexo masculino, os quais possuem níveis aumentados deste hormônio.

Referências:

- KONDO T. & AWADA F. Glutathione (oxidized and reduced form): assay mixture and measurement. *Experimental Protocols for Reactive Oxygen and Nitrogen Species* 1: 57 – 60, 2000.
- MONOSTORI P.; WITTMANN G.; KARG E. & TURI S. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples: An in-depth review. *Journal of Chromatography B*, 2009.
- TSUCHIDA S. Glutathione-S-transferase. *Experimental protocols for reactive oxygen and nitrogens species* (2000) 83 – 85.
- GRISHAM, M.B.; JOHNSON, G.G. & LANCASTER J.J.R. Quantitation of nitrate and nitrite in extracellular fluids. *Methods in Enzymology*, 268: 237–246, 1996.
- KARATEPE, M. Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC-UV. *LCGC North Am* 2004;22:362 – 365.

Apoio: CNPq e FIPE-HCPA

