

Beta-Talassemia Menor e o risco de aterosclerose: o papel do estresse oxidativo eritrocitário e dos níveis de paraoxonase-1 como fatores agravantes

Beta-Thalassemia Minor and the risk of atherosclerosis: the role of the erythrocytic oxidative stress and paraoxonase-1 levels as aggravating factors

Fernando Minervo Pimentel Reis¹

Fabiano Timbó Barbosa²

Fernando Wagner da Silva Ramos²

Resumo

A hemoglobina pode representar uma fonte adicional de espécies reativas do oxigênio; assim, perturbações na função e estrutura dos eritrócitos podem levar ao estresse oxidativo. A auto-oxidação de cadeias de globina e sobrecarga de ferro são os mecanismos sugeridos para o aumento do estresse oxidativo, tanto na beta-talassemia maior quanto na menor. Vários estudos têm avaliado o *status* oxidante e antioxidante de pacientes beta-talassêmicos, mas a maioria voltada para os estados graves e intermediários da doença. Entretanto, alguns estudos demonstraram aumento do estresse oxidativo e da capacidade antioxidante na beta-talassemia menor. Nos últimos anos, novas evidências sugerem que a oxidação da lipoproteína de baixa densidade é o passo fundamental para aterogênese. A paraoxonase-1, expressa no fígado, tem sido demonstrada por estar associada às partículas de lipoproteínas de alta densidade e por possuir capacidade antioxidante, protegendo ambas as lipoproteínas de baixa e alta densidade da lipoperoxidação. Alguns estudos com beta-talassemia menor demonstraram que, além do aumento do estresse oxidativo, os níveis de paraoxonase-1 estavam diminuídos. Como a paraoxonase-1 inibe a oxidação da lipoproteína de baixa densidade, pode ser sugerido que indivíduos com beta-talassemia menor sejam mais propensos à aterosclerose do que indivíduos saudáveis.

Palavras-chave

Talassemia beta; Estresse oxidativo; Peroxidação de lipídeos; Aterosclerose

INTRODUÇÃO

A beta-talassemia menor (BTM) é um grupo heterogêneo de doenças do sangue, caracterizada pela síntese diminuída ou ausente da cadeia de beta-globina, podendo ser causada por muitos defeitos moleculares, sendo a maioria deles mutações que afetam a expressão do gene da beta-globina, que está localizado no braço curto do cromossomo 11p15.5.⁽¹⁾

Os eritrócitos, nos talassêmicos, apresentam um excesso de globinas alfa ou beta livres que, por sua vez, induzem a formação de espécies reativas do oxigênio (EROs), devido ao baixo conteúdo intraeritrocitário da hemoglobina.⁽²⁾ Em pacientes com beta-talassemia maior, foi relatado que as espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) esta-

vam significativamente aumentadas, enquanto que o potencial antioxidante total no soro, medido como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC), foi significativamente menor em comparação com controles normais. São esperados resultados semelhantes com BTM, mas em menor grau.⁽³⁾

Com o objetivo de proteger o organismo de agentes pró-oxidantes, que são gerados durante o metabolismo celular e como resultado de processos patológicos, as células têm sistemas de defesas enzimático e não enzimático. O *status* oxidativo do eritrócito está relacionado com o equilíbrio entre a formação de agentes oxirredutores e sistema de defesa antioxidante.⁽¹⁾

Muitos estudos têm avaliado os *status* oxidante e antioxidante de pacientes talassêmicos, entretanto, a maioria

¹Especialista em Hematologia Clínica – Universidade Guarulhos. Farmacêutico-Bioquímico da Agência Transfusional do Hospital de Emergência Dr. Daniel Houly.

²Mestre pela Universidade Federal de Alagoas – UFAL – Maceió, Alagoas, Brasil.

Instituição: Local da Pesquisa: Centro Universitário CESMAC – Maceió, Alagoas, Brasil.
Suporte financeiro: sem suporte financeiro

Artigo recebido em 31/07/2016

Artigo aprovado em 16/05/2016

DOI: 10.21877/2448-3877.201600404

dos estudos tem focado principalmente na talassemia maior e intermédia e, assim, poucos estudos estão disponíveis para o perfil de BTM.⁽¹⁾

Nos últimos anos, cada vez mais evidências sugerem que a modificação oxidativa da lipoproteína de baixa densidade (LDL) é o passo fundamental para a sequência de eventos que levam a alterações vasculares relacionadas com a aterogênese. A paraoxonase-1 sérica (PON1) é uma glicoproteína de 45 kDa que é expressa no fígado e foi descoberta por estar associada com partículas de lipoproteínas de alta densidade (HDL) no sangue. Tem sido demonstrado que a deficiência de PON1, uma enzima antioxidante, está relacionada com a susceptibilidade aumentada para a oxidação da LDL e desenvolvimento de aterosclerose.⁽⁴⁾

Esse artigo teve como objetivo, revisar o metabolismo oxidativo do eritrócito, capacidade antioxidante, paraoxonase-1, bem como, a relação da beta-talassemia menor com o risco de aterosclerose. Esta revisão foi realizada utilizando-se como descritores: beta-talassemia, estresse oxidativo, capacidade antioxidante, paraoxonase-1 e peroxidação de lipídios, bem como, seus correspondentes em inglês. Os descritores utilizados permitiram uma busca abrangente sobre o tema, por meio das bases de dados PubMed, SciELO e Lilacs, durante o período de 1989 a 2015, incluindo também os artigos relevantes ao tema, publicados anteriormente, citados nos artigos previamente selecionados. Foram incluídos também estudos de intervenção, randomizados e controlados, além de estudos com animais de experimentação. Os estudos com desenhos metodológicos distintos foram utilizados predominantemente para a elaboração de conceitos, bem como para a descrição de mecanismos de ação. Foram excluídos: carta ao editor, comunicação, editorial, comentários e artigos em outras línguas que não a inglesa.

TALASSEMIAS

O termo Talassemia foi usado, pela primeira vez, em 1936, para designar anemia altamente prevalente na região do mar mediterrâneo, que havia sido descrita por Cooley e Lee, em 1925, em crianças descendentes de italianos, gregos e sírios. Estudos posteriores foram definindo as talassemias como grupos especiais de alterações hemoglobínicas hereditárias e a talassemia clássica passou a ser designada por beta-talassemia.⁽⁵⁾

As talassemias são um grupo heterogêneo de doenças genéticas causadas pela redução de cadeias de globina alfa (alfa-talassemia) ou beta (beta-talassemia). Situações mais raras envolvem a redução da síntese conjunta de cadeias de globina delta e beta (talassemia delta-beta), ou de delta, beta e gama (delta-beta-gama-talassemia).⁽⁶⁾

Beta-talassemias são mais heterogêneas do que as alfa-talassemias, e as lesões moleculares responsáveis pelas beta-talassemias são, em sua maioria, mutações pontuais que afetam a expressão do gene da beta-globina, que está localizado no braço curto do cromossomo 11p15.5.^(1,6,7)

É encontrada nas mais diversas regiões do mundo, que incluem países banhados pelo Mediterrâneo, partes do continente africano, do Oriente Médio, do subcontinente indiano, sudeste da Ásia e Ilhas do Pacífico. A frequência de BTM varia de 1% a 20% nessas regiões. Em diferentes populações geralmente são encontradas somente algumas mutações mais comuns associadas a um número variável de mutações raras, sendo que o perfil dessas mutações é característico para as diferentes populações. No Brasil, a frequência de BTM é de cerca de 1%.⁽⁸⁾

Todas as manifestações clínicas e hematológicas derivam do desequilíbrio da síntese das cadeias de globina. Os portadores dos dois genes anormais (os homozigotos e os heterozigotos compostos) têm manifestações clínicas graves, que se caracterizam por uma associação de graus variáveis de anemia hemolítica microcítica e hipocrômica, hiperplasia eritroide da medula óssea, hepatomegalia, esplenomegalia, retardo do desenvolvimento somático e sexual, e deformidades do esqueleto evidentes nos ossos do rosto e do crânio. Os heterozigotos (beta-talassemia menor) são habitualmente assintomáticos, embora, o defeito possa ser detectado por exames laboratoriais.⁽⁷⁾

BETA-TALASSEMIA MENOR

A beta-talassemia menor (BTM) é caracterizada geneticamente pela herança de um único gene alterado e manifesta heterogeneidade molecular e expressão fenotípica variável, podendo ser assintomática ou resultar em anemia discreta. Grande parte das beta-talassemias é estabelecida por mutações que afetam pequeno número de pares de bases e interferem na transcrição, processamento, transporte, estabilidade e tradução do RNA mensageiro (RNAm).^(5,6)

As mutações pontuais são as principais causas de redução ou ausência na síntese da cadeia polipeptídica. Quando a expressão gênica é parcial, denominam-se beta-talassemia⁺ (β^+) e quando a expressão é ausente, são chamadas beta-talassemia⁰ (β^0). Mais de duzentas mutações afetando o gene da beta-globina foram descritas, sendo encontradas em populações oriundas da região mediterrânea e do sudeste asiático. No Brasil, as frequências de portadores na população caucasóide é cerca de 1%, sendo os alelos β^0 CD39 (C → T), β^+ IVS-I-6 (T → C), β^+ IVS-I-110 (G → A) e β^0 IVS-I-1 (G → A) responsáveis pela quase totalidade dos casos nas regiões sul e sudeste. No Nordeste, além daqueles, também é encontrado o alelo β^+ IVS-I-5 (G → C).^(9,10,11)

A auto-oxidação de cadeias de globina e a sobrecarga de ferro são os mecanismos sugeridos para o aumento do estresse oxidativo, tanto na beta-talassemia maior quanto na menor.⁽³⁾ Hemoglobina oxidada associada às proteínas de membrana, compromete a estabilidade do eritrócito, devido ao estresse oxidativo, desempenhando importante papel na hemólise dessas células. Os mecanismos que facilitam a oxidação via formação de radicais livres são multifatoriais e resultam de cadeias globínicas livres, alto conteúdo intracelular de ferro e baixa concentração de hemoglobina (Hb) nos eritrócitos.^(5,12)

Nas formas β/β^0 ou β/β^+ , a redução da taxa de síntese de beta-globina é menor, mas suficiente para causar discreto grau de anemia microcítica e hipocrômica, com aumento da resistência osmótica dos eritrócitos.⁽⁶⁾ As formas de talassemia β/β^0 ou β/β^+ caracterizam-se pelo aumento da hemoglobina A_2 (Hb A_2), cuja concentração varia de 3,5% a 7,5%. A hemoglobina fetal (Hb F) pode estar normal ou discretamente aumentada.⁽⁵⁾

Indivíduos com BTM são habitualmente assintomáticos com Hb discretamente diminuída, porém, reduções mais acentuadas nos níveis de hemoglobina podem ocorrer na infância, na presença de infecções ou em processos inflamatórios crônicos.⁽⁷⁾ Entretanto, o diagnóstico da BTM é, algumas vezes, negligenciado pelo clínico ao deparar-se com microcitose e níveis discretos de anemia e, infelizmente, o tratamento com suplementos férricos ainda é frequentemente prescrito numa vã tentativa de normalizar a microcitose.⁽¹³⁾ As manifestações clínicas, quando presentes, variam entre os diferentes grupos étnicos, e entre elas podemos citar astenia, cansaço e baço palpável. A artrite também pode ser constatada na BTM.⁽⁶⁾ As enzimas de detoxificação, por sua vez, podem exibir-se alteradas e a peroxidação lipídica (lipoperoxidação) é evidente.⁽⁵⁾

ATEROSCLEROSE

A aterosclerose é caracterizada por lesões na túnica íntima denominadas ateromas ou placas ateromatosas ou fibrogordurosas, que invadem e obstruem o lúmen vascular e enfraquecem a túnica média subjacente. Apresentando uma distribuição mundial, a contribuição da aterosclerose para uma séria morbidade e mortalidade no Ocidente é de longe maior do que a de qualquer outra doença, permanecendo um problema global de saúde com 17,5 milhões de mortes no mundo.^(14,15)

Os fatores de risco constitucionais incluem idade, sexo e genética, e os fatores de risco não genéticos, particularmente alimentação, estilo de vida e hábitos individuais, como hiperlipidemia, hipertensão, tabagismo e diabetes são em grande parte reversíveis.⁽¹⁴⁾

A formação de placas ateroscleróticas complexas e maduras, por sua vez, envolve a migração de células mus-

culares lisas da túnica média para a íntima e a consequente produção de matriz extracelular, além de mineralização e neoformação vascular.⁽¹⁶⁾

A classificação da *American Heart Association* (AHA) divide as lesões ateroscleróticas em seis tipos, iniciando com células espumosas isoladas ("pontos gordurosos"), estágios de estrias gordurosas, ateromas e fibroateromas, até as lesões avançadas.⁽¹⁴⁾ Virmani et al., em 2002,⁽¹⁷⁾ fundamentados em novos estudos de autópsia e angiográficos, propuseram modificações na classificação da AHA até então vigente. Além da inovação na descrição das lesões, os autores também propuseram um novo modelo explicativo em que eventos como erosão e ruptura poderiam desencadear trombose seguida de morte ou cicatrização da lesão.⁽¹⁷⁾

Previamente considerada uma doença por acúmulo de colesterol, a aterosclerose é hoje entendida como uma complexa interação entre fatores de risco ambientais, componente genético, sistema imunológico, células hematológicas e endoteliais, fatores de coagulação e mediadores inflamatórios. Além disso, a resposta inflamatória também pode ser induzida pelo estresse oxidativo, especialmente pela oxidação da LDL, processo denominado de peroxidação lipídica ou lipoperoxidação.⁽¹⁸⁾ As células espumosas, precursoras do ateroma, são resultado da ligação leucocitária às partículas de LDL oxidadas.⁽¹⁶⁾

Um número de hipóteses tem sido lançado para unir estas características. O centro para estas teorias é o princípio de que o estresse oxidante aumentado perturba a homeostase vascular, promovendo a aterogênese. Nas células endoteliais, células inflamatórias circulantes e em plaquetas, radicais livres e espécies reativas não radicais, podem ser gerados através de reações entre íons superóxidos O_2^- (O_2^-), entre O_2^- e óxido nítrico (NO) e outros radicais livres, lipídios e proteínas. Nestes tipos celulares, o O_2^- é sintetizado pelas enzimas nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida oxidase (NADPH oxidase), mieloperoxidase (MPO), xantina oxidase, lipoxigenases, pelo desacoplamento da síntese do óxido nítrico e como um produto da respiração mitocondrial. Dentro da célula, alguns O_2^- são requeridos para manter a homeostase celular, entretanto, quando estas fontes de geração de O_2^- continuam ativadas depois de um estímulo fisiológico ter diminuído, a produção continuada de O_2^- altera a homeostase redox celular, resultando em estresse oxidante aumentado. Assim, existe evidência para dar suporte ao papel da ativação de fontes de O_2^- na patogênese da aterosclerose.⁽¹⁵⁾

A aterosclerose também tem sido associada a deficiência de paraoxonase-1 (PON1), uma enzima sintetizada no fígado e que está intimamente ligada à HDL, conferindo uma propriedade antioxidante para a HDL que protege a LDL contra a lipoperoxidação e, assim, atenuando o desenvolvimento da aterosclerose.⁽¹⁹⁾

RADICAIS LIVRES E ESTRESSE OXIDATIVO NO ERITRÓCITO

Nas últimas décadas, foram realizadas inúmeras pesquisas para esclarecer o papel dos radicais livres em processos fisiopatológicos como envelhecimento, câncer, aterosclerose, inflamação, etc.⁽²⁰⁾ Radical livre é definido como íon, átomo, ou molécula com um elétron desemparelhado. Quando o radical livre envolve o oxigênio em sua estrutura passa a ser denominado de EROs. O radical livre tende a procurar o seu equilíbrio e, por isso, toma o elétron de outra estrutura estabilizada, desestabilizando-a e causando reações em cadeia.⁽²¹⁾

Em eritrócitos, a Hb pode representar uma fonte adicional e quantitativamente significativa de geração de íons O_2^- em sistemas biológicos. Alterações em que a Hb se autooxida resultam em metahemoglobina e formação de O_2^- . Existe uma taxa fisiológica, normal, de formação de metahemoglobina em eritrócitos que promovem uma fonte contínua de produção de O_2^- que, por sua vez, gera peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio (O_2) como produtos de dismutação enzimática. Assim, perturbações na função e estrutura dos eritrócitos podem levar a um fluxo aumentado de geração pró-oxidante, que pode levar ao estresse oxidativo.⁽²²⁾

Deficiência de enzimas eritrocitárias, aumento do potencial oxidativo exógeno, defeito do grupo heme por mutação dos aminoácidos que o protegem, permitindo a contínua oxidação do ferro ou deficiência de síntese de Hb, como na talassemia, ou seja, qualquer uma das causas apresentadas desencadeiam a oxidação da hemoglobina, ao mesmo tempo em que são liberadas EROs (O_2 , H_2O_2 e OH^-).⁽²¹⁾

Os íons ferro e cobre são muito ativos em reações de óxido-redução, o que os capacitam como potentes catalisadores das reações de geração de radicais livres. A participação desses metais se dá especialmente por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss. A primeira, diz respeito à geração de radical hidroxila (OH^-), por meio da reação do H_2O_2 com os íons em questão (ferro/cobre), ao passo que, na segunda, estes íons catalisam a reação entre o H_2O_2 e o O_2^- , a fim de gerar, da mesma forma, o radical OH^- .⁽²³⁾

Além da capacidade do O_2^- em participar de reações de geração de OH^- , pode ainda, por meio da reação com o radical livre óxido nítrico (NO^-), gerar a espécie reativa de nitrogênio, peroxinitrito ($ONOO^-$), também potencialmente reativa.⁽²³⁾

O H_2O_2 , isoladamente, é praticamente inofensivo, porém, pode se difundir facilmente através das membranas celulares como, por exemplo, a membrana do núcleo. Devido ao fato da célula possuir metais de transição, ocorre geração do radical OH^- em seu interior.⁽²⁴⁾

O radical OH^- é o mais deletério ao organismo, pois devido à sua meia-vida muito curta, dificilmente pode ser

sequestrado *in vivo*.⁽²⁴⁾ O OH^- , por meio da retirada de um átomo de hidrogênio dos ácidos graxos poli-insaturados da membrana celular, desempenha importante papel na lipoperoxidação, sendo considerado o principal iniciador de tal processo.⁽²³⁾

CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO ERITRÓCITO

O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo, ou absorvidos da dieta.⁽²⁴⁾ Tais antioxidantes podem agir diretamente, neutralizando a ação dos radicais livres e espécies não radicais, ou indiretamente, participando dos sistemas enzimáticos com tal capacidade. Usualmente, esse sistema é dividido em enzimático e não enzimático. O sistema não enzimático é constituído por grande variedade de substâncias antioxidantes que podem ter origem endógena ou dietética.⁽²³⁾

O eritrócito, por ser uma célula anucleada e desprovida de organelas, apresenta o seu metabolismo energético suportado especialmente na degradação da glicose. Cerca de 90% da energia para o metabolismo dos eritrócitos é produzida pela glicólise anaeróbica da via de Embden-Meyerhof, que gera nicotinamida adenina dinucleotídeo hidrogenado (NADH), que é necessária para a enzima metahemoglobina redutase evitar o aumento da oxidação do ferro da hemoglobina – normalmente cerca de 3% da oxihemoglobina se transforma em metahemoglobina.⁽²¹⁾

A via das pentoses é responsável pela glicólise aeróbica, que gera cerca de 10% de energia dos eritrócitos. Essa via produz a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH) que é necessária para a redução da glutatona oxidada (GSSG) em glutatona reduzida (GSH).⁽²¹⁾

Com o objetivo de neutralizar o estresse oxidativo, os eritrócitos têm uma atividade autossustentável de enzimas de defesa antioxidantes, incluindo a superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx) e glutatona redutase (GR), além de antioxidantes de baixo peso molecular como GSH e vitamina E e C.⁽²²⁾

A SOD corresponde a uma família de enzimas com diferentes grupos prostéticos em sua composição. Em humanos existem três diferentes formas: SOD1 e SOD2, no citoplasma, e a SOD3, que é extracelular.⁽²⁵⁾ Esta enzima também tem papel antioxidante, já que catalisa a dismutação do radical superóxido em H_2O_2 e O_2 , na presença do próton Hidrogênio (H^+).⁽²⁰⁾

As enzimas CAT e GPx agem com o mesmo propósito, ou seja, o de impedir o acúmulo de H_2O_2 . Tal ação integrada é de grande importância, uma vez que, essa espécie reativa, por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss, mediante a participação dos metais ferro e cobre, culmina na geração do radical OH^- , contra o qual não há sistema enzimático de defesa.⁽²³⁾

A GSH, um cofator para a GPx reduzir o H_2O_2 , é facilmente oxidada à GSSG por compostos oxidantes.⁽²²⁾ A GSH previne danos aos componentes celulares por reagir com EROs, incluindo radicais livres e peróxidos. A GSSG é convertida à GSH, que é um potente antioxidante, pela GR que torna-se ativada pelo estresse oxidativo.⁽²⁵⁾

A vitamina C apresenta intensa atividade antioxidante contra radicais livres, gerados em meio hidrofílico. A presença de metais de transição, como o ferro, possibilita sua ação oxidante, tornando-a capaz de produzir espécies radicais (OH) e não radicais (H_2O_2).⁽²³⁾ A vitamina E confere proteção à membrana celular por atuar como quelante dos oxidantes produzidos durante a lipoperoxidação. É um importante antioxidante lipofílico, mas esta função poderá estar limitada em situações de sobrecarga de ferro.⁽²⁰⁾

Por tudo isso, os eritrócitos funcionam simplesmente para proteger a Hb através de uma barreira seletiva, permitindo o transporte de gases e outros ligantes, como também promover mecanismos enzimáticos para manter a Hb em um estado funcional não tóxico, promovendo proteção antioxidante não apenas para os eritrócitos, mas, também, para outros tecidos e órgãos no organismo.⁽²²⁾

PARAOXONASE-1

A família gênica da paraoxonase (PON) consiste de três membros, PON1, PON2 e PON3, alinhados próximos a cada um, no cromossomo 7 em humanos e cromossomo 6 em camundongos. Em ambas as espécies, as três PONs contêm 9 éxons de aproximadamente o mesmo tamanho.⁽²⁶⁾

A PON1 é a enzima mais estudada da família. Ela é sintetizada primeiramente no fígado e depois aparece especialmente no soro, onde está associada com a HDL. A PON2 está localizada intracelularmente e a PON3, embora também apareça no soro, é aproximadamente duas vezes menos abundante que a PON1.⁽²⁷⁾

O nome da família Paraoxonase (PONs), foi derivado da capacidade das PONs em hidrolisar o pesticida Paraoxon; entretanto, de fato, as PONs são lactonases.⁽²⁸⁾ Foi postulado que a L-Homocisteína tiolactona, um biomarcador associado com doença aterosclerótica, era substrato nativo da PON1. Para fornecer evidências para esta hipótese em potencial, Draganov et al., Khersonsky e Tawfik,^(29,30) separadamente, usaram experimentos bioquímicos de cinética enzimática da PON1 (e PON2 e PON3 por Draganov) e várias classes de substratos. Os resultados de ambos os grupos sugeriram que a atividade de lactonase era função enzimática nativa da PON1.⁽³¹⁾

No plasma, a Homocisteína (Hcy) existe na forma reduzida ou oxidada, como HTL (Homocisteína-tiolactona), e como um componente de proteínas, resultante da N-Homocisteinilação ou S-Homocisteinilação. Recentemente, Holven et al.⁽³²⁾ relataram que indivíduos com hiperhomo-

cisteinemia (HHcy) tinham atividade de PON1, marcadamente mais baixas do que controles saudáveis.⁽²⁸⁾

A PON1 tem sido demonstrada em reduzir as EROs nas células endoteliais de humanos, redução de células musculares lisas dos vasos e fibroblastos.⁽²⁸⁾ A evidência experimental para a função antioxidante da PON1 é decorrente de estudos *in vivo* realizados em camundongos PON1 *knockout*. Estes estudos demonstraram que a PON1 é eficaz na inibição da oxidação da LDL e lipoproteínas de densidade intermédia, substâncias com efeitos aterogênicos comprovados. Camundongos PON1 *knockout*, alimentados com uma dieta aterogênica rica em gordura e colesterol, desenvolveram mais aterosclerose do que camundongos selvagens. Além disso, a HDL foi incapaz de neutralizar a oxidação da LDL, sendo ambas LDL e HDL mais facilmente oxidadas.⁽³³⁾

Peróxidos lipídicos inibem a atividade da PON1, provavelmente através de interações com um grupo enxofre na enzima. Uma consequência importante deste fenômeno é que, se a HDL é oxidada, haverá uma redução na atividade da PON1 e, conseqüentemente, também uma redução da atividade protetora da enzima contra a oxidação da LDL.⁽³³⁾

Uma variedade de fatores não genéticos tem sido demonstrada por influenciar os níveis séricos e a atividade de PON1.⁽²⁶⁾ É evidente que a atividade da PON1 é influenciada por uma variedade de agentes, tais como ambiental, farmacológico, fatores de estilos de vida, bem como idade e sexo. Dieta gordurosa tem sido sugerida como um importante fator relevante. Estudos têm apresentado que ácidos graxos da dieta podem afetar a atividade da PON1.⁽³⁴⁾

A PON1 sofre inativação sob condições de estresse oxidativo e sua atividade é preservada por antioxidantes da dieta. A administração de endotoxinas e citocinas inflamatórias em camundongos resultaram em rápida e marcada redução de RNAs mensageiros de PON1 no fígado, que foi sustentada durante 48 horas, implicando a PON1 como uma proteína negativa de fase aguda. Assim, a transcrição do gene da PON1 é modulada por vários fatores relacionados com a inflamação, estresse oxidativo e colesterol. Entretanto, os mecanismos da regulação da expressão do gene da PON1 permanecem inconclusivos.⁽²⁶⁾

As variações observadas na atividade enzimática da PON1 também dependem da concentração plasmática de íons cálcio (Ca^{2+}) e da presença de variantes genéticas em regiões de codificação, tais como os polimorfismos PON1-192 e PON1-55, e no promotor do gene, tal como, o polimorfismo PON1- (107).⁽³³⁾

A PON1 exibe atividade de lactonase, que previne a oxidação da LDL e desintoxica a HTL. Uma vez que a disfunção endotelial é uma etapa muito precoce na aterogênese, ligando a LDL oxidada às células endoteliais, trata-se de uma área de intensa investigação.⁽²⁸⁾

BETA-TALASSEMIA MENOR E SUA RELAÇÃO COM O ESTRESSE OXIDATIVO, PARAOXONASE-1 E O RISCO DE ATEROSCLEROSE

Em indivíduos com BTM, há um excesso de cadeias alfa livres e uma liberação do grupo heme intraeritrocítico, que desencadeia uma via de oxidação de hemoglobina, provocando danos aos eritrócitos. A auto-oxidação da hemoglobina reflete a formação de íons O_2^- e H_2O_2 , resultantes do estresse oxidativo.⁽¹⁾

O aumento do estresse oxidativo tem sido relatado nas beta-talassemias intermédia e maior, e o dano oxidativo nas talassemias tem sido relacionado com a geração de EROs, devido a um excesso de cadeias alfa livres, sobrecarga de ferro intracelular e baixa concentração de Hb.⁽⁴⁾ Em indivíduos com BTM, o *status* oxidativo foi investigado em um estudo de Vives Corrons et al. Eles encontraram estresse oxidativo significativamente aumentado em pacientes com BTM, em comparação com outras formas de anemias microcíticas, incluindo delta/beta-talassemia e anemia por deficiência de ferro.⁽³⁵⁾

Ondei et al. avaliaram a lipoperoxidação (TBARS) e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC), em relação ao ferro e ferritina séricas na BTM, resultante de duas mutações diferentes (CD39 e IVS-I-110), em comparação com indivíduos sem beta-talassemia. Este estudo mostrou um aumento do estresse oxidativo e da capacidade antioxidante em indivíduos com BTM, principalmente, nos portadores da mutação CD39, provavelmente devido ao maior número de cadeias alfa livres na forma β^0 . É possível que o estresse oxidativo influencie o aumento da capacidade antioxidante que foi detectada neste estudo, independentemente do tipo de mutação (CD39 ou IVS-I-110), indicando um possível mecanismo para atenuar o estresse oxidativo nesta doença.⁽¹⁾

Lai desenvolveu um estudo com o objetivo de compreender melhor os mecanismos fisiopatológicos para correlacionar a talassemia intermédia (BTI) e menor (BTM) com risco cardiovascular, e encontrou níveis mais baixos de HDL e da razão HDL/Colesterol Total (que são considerados fatores de risco independentes para aterosclerose), tanto na BTI quanto na BTM. Além disso, células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) de BTI e BTM acumularam mais éster de colesterol nos seus citoplasmas. Tomados em conjunto, estes resultados fornecem suporte experimental para a ideia de que não só pacientes com BTI, mas, também, pacientes com BTM, têm um fenótipo bioquímico pró-aterogênico, que pode contribuir para aumentar o risco de doenças cardiovasculares.⁽³⁶⁾

Nos últimos anos, cada vez mais, evidências sugerem que a modificação oxidativa da LDL é o passo fundamental para a sequência de eventos que levam a alterações vasculares relacionadas com a aterogênese. A PON1 é uma

glicoproteína de 45 kDa que é expressa no fígado e foi descoberta por estar associada com partículas de HDL no sangue. Tem sido demonstrado que a deficiência de PON1, uma enzima antioxidante, está relacionada com a susceptibilidade aumentada para a oxidação da LDL e desenvolvimento de aterosclerose.⁽⁴⁾

É sabido que a atividade sérica da PON1, geralmente, varia de acordo com seu consumo na prevenção da oxidação.⁽³⁷⁾ Além disso, recentemente, tem sido demonstrada que a atividade sérica reduzida da PON1, está associada com o grau de anemia. Assim, tanto o aumento do estresse oxidativo quanto a diminuição do nível de Hb, em indivíduos com BTM, comparados com controles saudáveis, podem, em parte, ter um papel importante na redução da atividade da PON1.⁽³⁸⁾

A criação de camundongos PON1 *knockout* (PON1^{-/-}) por Shih et al.⁽³⁹⁾ forneceu uma plataforma para examinar o papel fisiológico da PON1. A susceptibilidade aterosclerótica e a oxidação de LDL foram drasticamente aumentadas quando o camundongo duplo *knockout*, que combinou PON1^{-/-} e apolipoproteína E (apoE^{-/-}), foi gerado. Por outro lado, o camundongo com PON1 transgênica humana (HuTgPON1), que mostrou um aumento de duas a quatro vezes nos níveis de atividade de PON1 no plasma, foi mais eficaz na proteção contra a oxidação de LDL, e os seus níveis mais elevados de PON1 protegeram contra o desenvolvimento ou progressão da aterosclerose.⁽³¹⁾

Selek et al. conduziram um estudo com BTM para investigar as atividades da PON1 juntamente com parâmetros de *status* oxidativo, e descobrir se existe algum aumento da susceptibilidade à aterogênese, o que pode ser refletida com aumento do estresse oxidativo e redução da atividade da PON1 sérica. Os achados deste estudo sugeriram que o estresse oxidativo é maior, enquanto que a atividade sérica da PON1 é diminuída em indivíduos BTM.⁽⁴⁾

A diminuição da atividade da PON1 parece estar associada tanto com o grau de estresse oxidativo quanto com a anemia. Como a PON1 inibe a modificação oxidativa da LDL, pode ser sugerido que os indivíduos com BTM possam ser mais propensos ao desenvolvimento de aterogênese que indivíduos saudáveis. Outros estudos prospectivos são necessários para investigar a associação da baixa atividade da PON1 e o desenvolvimento da aterogênese, em indivíduos com BTM4.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Historicamente, a beta-talassemia menor é considerada como uma entidade assintomática, sem necessidade de intervenção e restrita apenas ao diagnóstico, aconselhamento genético e orientações sobre a não necessidade de uso de medicamentos à base de ferro. Mui-

to se conhece sobre as consequências fisiopatológicas das formas mais graves de beta-talassemia, que sempre despertaram o interesse da comunidade científica por se tratarem de entidades clinicamente relevantes e que requerem transfusões periódicas, assim como demandam bastante manejo clínico. Entretanto, pesquisas recentes vêm revelando resultados significativos não somente sobre o perfil oxidante e antioxidante, mas, também, novas abordagens no que diz respeito ao *status* oxidativo nos diferentes grupos de mutações que acometem os portadores de beta-talassemia menor. Embora o cenário atual ainda se concentre massivamente na beta-talassemia maior e intermédia e, mesmo diante de poucos trabalhos publicados sobre beta-talassemia menor e sua relação com o perfil oxidativo e, mais recentemente, com a paraoxonase-1 e risco de aterosclerose, faz-se necessária a realização de mais estudos prospectivos, multicêntricos e com maior tamanho amostral para avaliar se indivíduos beta-talassêmicos menores continuarão sendo apenas simples portadores de uma doença monogênica sem complicações ou, se podem ser, de fato, considerados como um grupo susceptível ao desenvolvimento de aterosclerose.

Agradecimento

Agradecemos ao Professor Dr. Raimundo Antônio Gomes de Oliveira do Centro de Pesquisa Clínica (CEPEC) do Hospital Universitário da UFMA, ao Professor Dr. Luiz Arthur Calheiros Leite do Departamento de Biofísica da UFPE e à Professora Dra. Cláudia Regina Bonini Domingos e todos que fazem o Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas (LHGDH) da UNESP de São José do Rio Preto.

Abstract

Hemoglobin may be an additional source of reactive oxygen species in erythrocytes; thus, disturbances in the function and structure of erythrocytes could lead to oxidative stress. Self-oxidation of globin chains and iron overload are the suggested mechanisms to the increase of oxidative stress in beta-thalassemia major and beta-thalassemia minor. Several studies have evaluated the oxidant and antioxidant status of beta thalassemia patients, but the mostly focused mainly on the thalassemia major and intermediate forms. However, some studies found an increase of the oxidative stress and antioxidant capacity in beta-thalassemia minor. In the last years, further evidences suggest that oxidative modification of low-density lipoprotein is the key step to atherogenesis. Serum paraoxonase-1 that is expressed on the liver, has been found to be associated with high-density lipoproteins and antioxidant capacity, protecting both low and high-density lipoproteins of the lipid peroxidation. Some studies with beta-thalassemia minor found that, in addition to increased oxidative stress, the paraoxonase-1 levels were decreased. As the paraoxonase-1 inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein, could be suggested who subjects with beta-thalassemia minor may be more susceptible than healthy controls to the atherosclerosis development.

Keywords

beta-Thalassemia; Oxidative stress; Lipid peroxidation; Atherosclerosis

REFERÊNCIAS

1. Ondei Lde S, Estevão Ida F, Rocha MI, Percário S, Souza DR, Pinhel MA, et al. Oxidative stress and antioxidant status in beta-thalassemia heterozygotes. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2013; 35(6):409-13.
2. Naoum PC, Querino SSS, Cury NM, Toledo CG, Naoum FA. Avaliação laboratorial da toxicidade molecular em eritrócitos talassêmicos. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2006;28(4):301-2.
3. Shekhar HU. Comment on: oxidative stress and antioxidant status in beta-thalassemia heterozygotes. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2013; 35(6):385-6.
4. Selek S, Aslan M, Horoz M, Gur M, Erel O. Oxidative status and serum PON1 activity in beta-thalassemia minor. *Clinical Biochemistry.* 2007;40:287-91.
5. Lima Santos PC. Hematologia: métodos e interpretação. Bonini-Domingos CR. Anemias do desenvolvimento anormal da globina: talassemias. São Paulo: Roca; 2013. p. 213-49.
6. Naoum PC. Eletroforeses: hemoglobinopatias, proteínas séricas, lipoproteínas, DNA. São Paulo: Santos; 2012.
7. Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Tratado de Hematologia. Zago MA. Talassemias. 2ª ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2013.
8. Da Silveira ZML. Caracterização molecular e laboratorial da talassemia beta e da interação hemoglobina S/Talassemia beta. Natal. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia da UFRN; 2010.
9. Araújo AS, Silva IW, Leão SA, Bandeira FC, Petrou M, Modell B, et al. A different molecular pattern of beta-thalassemia mutations in northeast in Brazil. *Hemoglobin.* 2003 Nov;27(4):211-7.
10. Bonini-Domingos CR. Thalassemia screening in Brazil - Results for 20 years. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2004;26(4):288-89.
11. Sonatti MF, Costa FF. Genética das doenças hematológicas. *J Ped.* 2008; 84:S40-S51.
12. De Franceschi L, Bertoldi M, Matte A, Santos Franco S, Pantaleo A, Ferru E, et al. Oxidative stress and β -thalassemic erythroid cells behind the molecular defect. *Oxid Med Cell Longev.* 2013; 2013:985210. [Internet]. 2013 [Acesso em 17 de nov 2014]; 10 p. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/985210>.
13. Matos JM. Avaliação do desempenho de um novo índice na diferenciação entre anemia ferropriva talassemias menores. Belo Horizonte. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia da UFMG; 2012.
14. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Bases patológicas das doenças. 7a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.
15. Leopold JA, Loscalzo J. Oxidative risk for atherothrombotic cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med.* 2009 Dec 15;47(12): 1673-706.
16. Azevedo S, Victor EG, Oliveira DC. Diabetes mellitus e aterosclerose: noções básicas da fisiopatologia para o clínico geral. *Rev Bras Clin Med.* 2010; 8(6):520-26.
17. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 May;20(5):1262-75.
18. Da Costa Silva D, Cerchiaro G, Honório KM. Relações patofisiológicas entre estresse oxidativo e arteriosclerose. *Quim. Nova.* 2011; 2(34): 300-05.
19. Lou-Bonafonte JM, Riverea CG, Navarro MA, Osada J. PON1 and Mediterranean Diet. *Nutrients.* 2015 May 27;7(6):4068-
20. Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Brasil.* 1997;43(1):61-8.
21. Doenças dos Eritrócitos [Internet]. São José do Rio Preto: 2010 [Acesso 2014 Março 15]. Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/index.php/publicacoes/doenca-dos-eritrocitos/>.

22. Silva DGH, Belini Junior E, de Almeida EA; Bonini-Domingos CR. Oxidative stress in sickle cell disease: An overview of erythrocyte redox metabolism and current antioxidant therapeutic strategies. *Free Radic Biol Med*. 2013 Dec;65:1101-9.
23. Barbosa KBF, Costa NMB; Alfenas RCG, De Paula SO, Minim VPR, Bressan J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev Nutr Campinas*. 2010;23(4):629-43.
24. Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova*. 2006;1(29):113-23.
25. Shazia Q, Mohammad ZH, Rahman Taibur, Shekhar HU. Correlation of oxidative stress with serum trace element levels and antioxidant enzyme status in Beta thalassemia major patients: a review of the literature. *Anemia*. 2012;2012:270923.
26. Fuhrman B. Regulation of Hepatic Paraoxonase-1 Expression. *J Lipids*. 2012;2012:684010.
27. Ceron JJ, Tecles F, Tvarijonavičiute A. Serum paraoxonase 1 (PON1) measurement: an update. *BMC Vet Res*. 2014 Mar 25;10:74.
28. Eren E, Ellidag HY, Aydin O, Yilmaz N. Homocysteine, Paraoxonase-1 and Vascular Endothelial Dysfunction: Omnibus viis Romam Pervenitur. *J Clin Diagn Res*. 2014 Sep;8(9):CE01-4.
29. Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, Osawa Y, Sunahara R, La Du BN. Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J Lipid Res*. 2005 Jun;46(6):1239-47.
30. Khersonsky O, Tawfik DS. Structure-reactivity studies of serum paraoxonase PON1 suggest that its native activity is lactonase. *Biochemistry*. 2005 Apr 26;44(16):6371-82.
31. Kim DS, Marsillach J, Furlong CE, Jarvik GP. Pharmacogenetics of paraoxonase activity: elucidating the role of high-density lipoprotein in disease. *Pharmacogenomics*. 2013 Sep;14(12):1495-515.
32. Holven KB, Haugstad TS, Holm T, Aukrust P, Ose L, Nenseter MS. Folic acid treatment reduces elevated plasma levels of asymmetric dimethylarginine in hyperhomocysteinaemic subjects. *Br J Nutr*. 2003 Mar;89(3):359-63.
33. Tomás M, Latorre G, Sentí M, Marrugat J. The antioxidant function of high density lipoproteins: a new paradigm in atherosclerosis. *Rev Esp Cardiol*. 2004 Jun;57(6):557-69. [Article in Spanish].
34. Boshtam M, Razavi AE, Pourfarzam M, Ani M, Naderi GA, Basati G, et al. Serum paraoxonase 1 activity is associated with fatty acid composition of high density lipoprotein. *Dis Markers*. 2013;35(4):273-80.
35. Vives Corrons JL, Miguel-Garcia A, Pujades MA, Miguel-Sosa A, Cambiasso S, Linares M, et al. Increased susceptibility of microcytic red blood cells to in vitro oxidative stress. *Eur J Haematol*. 1995 Nov;55(5):327-31.
36. Lai ME, Vacquer S, Carta MP, Spiga A, Cocco P, Abete C, et al. Evidence for a Proatherogenic Biochemical Phenotype in Beta Thalassemia Minor and Intermedia. *Acta Haematol*. 2011;126(2):87-94.
37. Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Erogul J, Sorenson R, Bisgaier CL, et al. Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic Biol Med*. 1999 Apr;26(7-8):892-904.
38. Aslan M, Kosecik M, Horoz M, Selek S, Celik H, Erel O. Assessment of paraoxonase and arylesterase activities in patients with iron deficiency anemia. *Atherosclerosis*. 2007 Apr;191(2):397-402.
39. Shih DM1, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, et al. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature*. 1998 Jul 16;394(6690):284-7.

Correspondência

Fernando Minervo Pimentel Reis

*Rua Agostinho Severino dos Santos, 70, Bairro Manoel Teles,
57305-240 – Arapiraca, Alagoas*