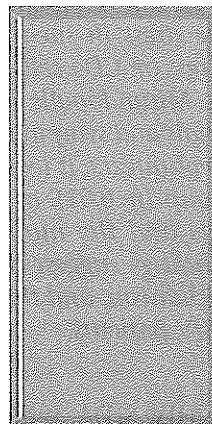


Sandro Percário (Uniso e Unifesp)
Valdir Francisco Odorizzi (UF de Mato Grosso do Sul)

*Avaliação do estresse oxidativo em
pacientes portadores de Síndrome de
Imunodeficiência Adquirida (SIDA)*



RESUMO

Nos últimos anos tem-se demonstrado que a infecção pelo vírus HIV está fortemente associada à diminuição da capacidade de defesa antioxidante endógena dos portadores, facilitando a ação de radicais livres, os quais podem desencadear intensos mecanismos de lesão celular, culminando com o aparecimento da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA). Com o objetivo de verificar o estresse oxidativo nesses pacientes, bem como avaliar o potencial efeito do estresse oxidativo sobre as células CD4+, realizamos a dosagem do malondialdeído (MDA) em 18 voluntários do sexo masculino do Complexo Penitenciário de Mirandópolis, todos HIV positivos, após manifestação de sinais e sintomas da doença. O grupo controle foi composto de 16 indivíduos saudáveis. Foram encontrados níveis de MDA significativamente maiores nos pacientes portadores do vírus ($p < 0,01$), além de uma importante correlação negativa entre os níveis de MDA e o número de células CD4 para os pacientes do grupo HIV ($r = 0,8712$). Tais achados sugerem que o estresse oxidativo está envolvido no mecanismo de destruição das células CD4 e que os níveis séricos do MDA podem constituir-se em um importante marcador da evolução clínica dos pacientes.

ABSTRACT

It has lately been demonstrated that HIV virus infection is largely associated to the reducing endogenous antioxidant defenses of such patients, facilitating free radicals action, which may led to cellular injury mechanisms, resulting in the onset of Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). With the aim of measuring oxidative stress in such patients, as well as to verify the potential effect of oxidative stress on CD4 cells, we performed seric MDA assay on 18 male volunteers from the Mirandópolis Penitentiary Complex, all positive for HIV, after the onset of signals and symptoms of the disease. The control group consisted of 16 healthy male volunteers. It was seen significantly higher levels of MDA on the HIV patients group ($p < 0,01$), as well as an important negative correlation between MDA levels and the number of CD4 cells for HIV group patients ($r = 0,8712$). These findings suggest the involvement of oxidative stress on CD4 cells destruction mechanism, and that MDA may become an useful clinical evolution marker for HIV patients.

Palavras-chave: HIV, SIDA, radicais livres, estresse oxidativo, CD4.

Introdução

A lesão celular pode ser determinada por qualquer agente capaz de alterar a membrana celular ou as organelas intracelulares. A agressão pode ser originada por vários agentes químicos, físicos, infecciosos, de lise imunológica que, em uma seqüência de eventos, semelhantes àqueles que ocorrem na hipóxia, levam a uma lesão irreversível da membrana biológica. Mecanismos importantes de lesão celular são aqueles induzidos pelos radicais livres, particularmente pelas espécies de oxigênio ativado¹⁻³. Esse tipo de lesão emerge como via final comum de agressão celular em processos dos mais variados, como as lesões químicas, por irradiação, lesão inflamatória, destruição de tumor por macrófagos, morte microbiana por células fagocitárias, envelhecimento celular, toxicidade do oxigênio e outras.

Os radicais livres são espécies químicas que possuem um elétron não pareado em sua órbita externa. Em tal estado, a molécula torna-se extremamente reativa e instável e entra em reações químicas com substâncias químicas orgânicas e inorgânicas – proteínas, lipídios, carboidratos² em particular com moléculas-chave nas membranas e ácidos nucleicos. Os radicais livres encetam reações autocatalíticas pelas quais as moléculas com que eles se interagem são elas mesmas convertidas em radicais livres, assim propagando a cadeia de agressão.

Os radicais livres podem ser iniciados dentro das células pela absorção de energia radiante (p. ex., luz ultravioleta, raios-X); por reações endógenas, geralmente oxidativas, que ocorrem dentro dos processos metabólicos normais ou pelo metabolismo enzimático de substâncias químicas ou drogas exógenas. Um elétron não pareado pode estar associado a qualquer átomo, mas os radicais livres centrados no oxigênio e no carbono são os de maior relevância biológica.

Radicais derivados do oxigênio:

O oxigênio normalmente passa por redução de quatro elétrons chegando a H_2O , catalisada pela citocromo – oxidase. No entanto, a presença de oxigênio intracelular também permite a inadvertida produção de espécies tóxicas intermediárias de oxigênio reduzido. Dentre essas espécies, as três mais importantes são o superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxila (OH^{\cdot}). Estes podem ser produzidos pela atividade de

uma variedade de enzimas oxidativas, em diferentes locais das células, tais como o citosol, mitocôndrias, lisossomas, peroxissomas e membranas plasmáticas.

Em geral, o superóxido ou é gerado durante a auto-oxidação nas mitocôndrias ou, enzimaticamente, pelas enzimas citoplasmáticas como a xantina oxidase, citocromo P450 e outras oxidases (Fig. 1).

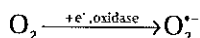


Figura 1. Redução incompleta do oxigênio, produzindo radicais superóxido.

Uma vez produzido, o superóxido pode ser inativado, espontaneamente, ou mais rapidamente, pela enzima superóxido dismutase (SOD), formando peróxido de Hidrogênio (Fig. 2).

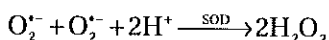


Figura 2. Produção de peróxido de hidrogênio por ação da enzima Superóxido Dismutase (SOD).

O peróxido de hidrogênio ou é produzido pela dismutação do $\text{O}_2^{\cdot-}$, como acima explicado ou, diretamente, pelas oxidases presentes nos peroxissomas (organelas presentes em vários órgãos que contem catalase).

Os radicais hidroxilas são gerados pela hidrólise da água, causada por irradiação ionizante, pela interação com metais transicionais na reação de Fenton ou através da reação de Haber - Weiss (Fig. 3).

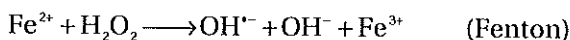
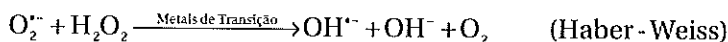


Figura 3. Reações de Haber-Weiss e de Fenton.

O ferro é particularmente importante na lesão tóxica do oxigênio. A maior parte do ferro livre está na forma férrica (Fe^{3+}) e tem de ser reduzido para a forma ferrosa (Fe^{2+}), para ser ativo na reação de Fenton. Essa redução pode ser acelerada pelo superóxido e, dessa forma, explica-se sua importância na geração de radicais hidroxila.

Os principais efeitos dessas espécies reativas ocorrem nas membranas, ligações sulfídricas de proteínas, lipídios e nucleotídeos de DNA. Na presença do oxigênio, os radicais livres podem causar a peroxidação lipídica dentro das membranas celulares e das organelas e causar lesão do retículo endoplasmático, mitocôndrias e outros elementos microssômicos. A ligação cruzada das proteínas através da formação das cadeias disulfídicas pode também ocorrer e causar distúrbios na célula, em particular inativando enzimas sulfidrílicas. As interações com o DNA induzem mutações no código genético, as quais, se não corrigidas, induzem distúrbios celulares, bem como inibição da replicação do DNA. Os três radicais livres derivados do oxigênio estão envolvidos na lesão do DNA (5).

Os radicais livres O_2^- e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), apesar de pequena ação direta sobre constituintes celulares, causando-lhes dano, são considerados principalmente pelo fato de participar da reação de Haber-Weiss (Fig. 2), produzindo os radicais OH^- , verdadeiros responsáveis pela injúria celular. Estes radicais hidroxila atuando sobre lipídios, carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos, em um fenômeno chamado de "estresse oxidativo", levarão a modificações da função e estrutura celular que poderão levar esta célula à morte. Da ação dos OH^- sobre ácidos nucleicos decorrem modificações estruturais da molécula do DNA, implicando alterações, tais como mutações gênicas; sobre carboidratos (principalmente em glicosaminoglicanos) são capazes de provocar quebras nas cadeias glicídicas, incorrendo em perda do reconhecimento do contato celular, podendo levar a divisões celulares não limitadas pelo contato de células vizinhas; em proteínas os radicais livres causam o fenômeno conhecido como peroxidação protéica, que causa quebra de cadeias polipeptídicas, perda ou alteração de atividade enzimática, incorrendo em alterações funcionais e estruturais na célula, e sobre lipídios resultam no bem conhecido fenômeno chamado peroxidação lipídica, que é principalmente responsável por alterações da permeabilidade da membrana celular. Dessa forma evidenciamos que o resultado do estresse oxidativo é, com freqüência, a destruição celular.

A peroxidação lipídica é um processo complexo definido como a de-
teorização oxidativa de ácidos graxos poliinsaturados (2). Esse processo é iniciado pela abstração de um átomo de hidrogênio de um grupo metila localizado entre duas bandas isoladas de ácido graxo. Um radical carbono-centrado é formado e reage com oxigênio molecular, originando um radical peroxil. O radical peroxil é extremamente reativo e propaga uma reação

em cadeia, subtraindo um outro átomo de hidrogênio vizinho do ácido graxo. Nessa sucessão de reações são formados o hidroperóxido lipídico e um novo radical carbono-centrado. Os hidroperóxidos e os radicais lipídicos (alquil e peroxil) podem decompor-se em uma série de produtos intermediários, como o malondialdeído e vários tipos de hidroxialquenais que podem ser biologicamente ativos, tóxicos ou mutagênicos; eles podem reagir com grupos funcionais de proteínas ou DNA, modificando as macromoléculas (6,7,8).

Quando a peroxidação lipídica se estende, são destruídas as membranas, comprometendo a compartimentação das células, levando-as à morte. Na célula, o principal local de produção de espécies reativas de oxigênio é a mitocôndria. O radical gerado é subproduto da cadeia respiratória (2) e é o ânion superóxido. As mitocôndrias também acumulam moléculas de baixo peso molecular, os complexos Fe^{2+} , que aceleram a peroxidação lipídica, provavelmente catalisando a formação das radicais hidroxil. Essas oxidações, na mitocôndria, ocorrem em lipídios, proteínas e DNA, danificando-os e conduzindo à deficiência orgânica e morte celular (9).

Sistemas de defesa

Uma vez formado o radical livre, ele pode degenerar-se espontaneamente ou ser inativado por um sistema de defesa. O primeiro sistema de defesa é o enzimático, composto pelas seguintes enzimas:

a) Superóxido dismutase, que converte o superóxido em água (Fig. 4).

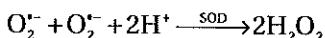


Figura 4. Ação da SOD.

b) Catalase, que decompõe o hidroperóxido (Fig. 5).

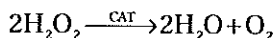


Figura 5. Ação da Catálise (CAT).

c) Glutathiona peroxidase, que catalisa a capacidade da glutathiona reduzida (GSH) de liberar o hidrogênio do -SH para um radical hidroxila ou peróxido (Fig. 6).

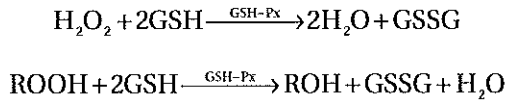


Figura 6. Ação da Glutaciona peroxidase (GSH-Px)

Outro sistema de defesa é o não-enzimático, que bloqueia o início da formação de radicais livres ou os inativam por seqüestro (p. ex., vitamina E, cisteína, glutadiona, D-penicilnamida, proteínas séricas como ceruloplasmina e transferrina).

Mecanismo de lesões oxidativas mais comuns

Lesão Química: a toxicidade de muitas substâncias químicas e drogas pode ser atribuída seja à conversão dessas substancias em radicais livres, seja à formação de metabólitos tóxicos derivados do oxigênio.

Inflamação: os metabólitos tóxicos derivados do oxigênio, produzidos pelos leucócitos e por outras células no curso de uma inflamação, têm um papel importante na indução da lesão tissular e na elaboração de agentes quimiotáticos.

Morte-microbiana – As bactérias ingeridas pelos leucócitos são mortas dentro dos fagolissomas. A agressão letal às bactérias depende, em grande parte, da explosão oxidativa que ocorre nos leucócitos durante a fagocitose, resultando em liberação de radicais de oxigênio.

Lesões por irradiação – O papel dos radicais livres na lesão tissular induzida pela irradiação está bem documentada. Os radicais hidroxila produzidos pela radiólise se somam às bases dos ácidos nucléicos e abstraem hidrogênio da pentose, liberando radicais livres orgânicos.

Toxicidade pelo oxigênio e por outros gases – A exposição às altas concentrações de oxigênio, ozônio e outros gases resulta em lesão pulmonar, e sua ação parece ser mediada pela formação de radicais livres. Como a superóxido dismutase e a catálise inativam alguns dos radicais tóxicos de oxigênio, a administração dessas enzimas irá diminuir a gravidade da lesão pulmonar.

Envelhecimento – Na sua forma mais simples, a assim chamada teoria do envelhecimento pelos radicais livres supõe que a formação de tais radicais é mais freqüente em organismos velhos, resultando em peroxidação lipídica e lesões da membrana. Teoricamente, a maior peroxidação lipídica

com o envelhecimento pode ocorrer como resultado de uma contínua e crescente formação de radicais livres, causada por agentes ambientais; por uma menor disponibilidade de antioxidantes, por razões ainda desconhecidas; ou uma perda ou diminuição da atividade de alguns compostos ou enzimas que catalisam a inativação de radicais livres tóxicos (p. ex. da superóxido dismutase).

Radicais livres e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

Nos pacientes infectados com HIV, o estresse oxidativo ocorre após a depleção do sistema protetor (glutadiona peroxidase, superóxido dismutase, vitamina E, selênio, ...), e um aumento da produção de radicais livres (ânion superóxido, hidropéroxido, radical hidroxil), em consequência da ativação dos linfócitos, das células fagocitárias, da inflamação crônica, do aumento da concentração de ácidos graxos poliinsaturados com direcionamento a lipoperoxidação e efeitos diretos ou indiretos de alguns agentes patológicos como *Micoplasma sp*, *Toxoplasma gondii* e outros. Esse excesso de radicais livres pode agredir as membranas celulares e levar à apoptose, a maior causa da depleção do CD4⁺ (16).

Marcadores de peroxidação lipídica.

Como vimos, da ação de radicais livres no fenômeno de estresse oxidativo surge uma variedade muito grande de subprodutos que quase sempre podem ser avaliados em laboratório e, dessa forma, fornecer um indicador mais ou menos apropriado do estresse oxidativo. O estudo da peroxidação lipídica é uma das formas mais utilizadas para a avaliação do estresse oxidativo e um razoável indicador indireto da ação de radicais livres.

Por sua vez, a peroxidação lipídica também é um fenômeno complexo que apresenta várias reações químicas secundárias, resultando em larga gama de subprodutos e produtos intermediários. De todos esses subprodutos e produtos intermediários a dosagem do malondialdeído (MDA) tem sido, além de mais antiga, a forma mais utilizada de avaliação da peroxidação lipídica. A dosagem do MDA é um método muito simples, baseado na reação deste com o ácido tiobarbitúrico, em condições ácidas e aquecimento.

A extensão da peroxidação lipídica *in vitro* ou em modelos de sistemas pode ser acompanhada pelo aparecimento de moléculas marcadoras (10,11). A maioria dos lipídios oxidados e freqüentemente danificados é determinada mensurando substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), o malondialdeído, um subproduto solúvel em água, da peroxidação lipídica. Um método mais avançado, para determinar o malondialdeído, consiste na derivação do TBARS e subsequente análise em cromatografia líquida de alta performance (HPLC), fluorescência de UV-VIS (12). Outro método não específico, freqüentemente aplicado, é baseado na mensuração dos dienos conjugados que são outros intermediários na peroxidação lipídica. Um grande número de métodos está disponível para determinar hidroperóxidos lipídicos. Métodos de separação de subprodutos da peroxidação lipídica por HPLC, combinados com métodos seletivos de detecção, como a quimioluminescência, estão descritos na literatura. Recentemente, a análise de isoprostanos tem sido introduzida como um mensurador da peroxidação lipídica (13) e está baseada no fato de o F₂ isoprostano ser gerado pelo ataque de um radical livre ao ácido araquidônico, oxidando-o independente de catálise pela ciclooxigenase. Já foi demonstrado o aumento na excreção urinária de F₂ isoprostanos em situações de estresse oxidativo (14). A 8 epi-prostaglandina F₂ α é freqüentemente usada como biomarcador da peroxidação lipídica e tem sido identificada nas artérias coronarianas de pacientes com doença arterial coronariana. Fisiologicamente, estas moléculas são produzidas por plaquetas e monócitos ativados, porém em quantidade desprezível, quando comparados com a oxidação não-enzimática do ácido araquidônico. Atualmente, acredita-se que a quantificação de isoprostanos esta entre os parâmetros mais seguros que indicam a peroxidação lipídica. Infelizmente, tais técnicas não estão disponíveis nos laboratórios comuns (14). No processo de peroxidação lipídica são também formados produtos voláteis, como o etano e o pentano, que são exalados com a respiração e podem ser medidos como marcadores da peroxidação lipídica, porém existem inúmeras dificuldades técnicas (15).

Objetivo

Este estudo teve por objetivo avaliar o estresse oxidativo em pacientes aidéticos, em comparação a indivíduos não-portadores da síndrome, através da dosagem de um indicador da peroxidação lipídica, o Malondialdeído.

do (MDA), bem como avaliar o potencial efeito do estresse oxidativo sobre as células CD4⁺ nesses pacientes.

Métodos

Foram selecionados 18 voluntários do sexo masculino do Complexo Penitenciário de Mirandópolis, todos HIV positivos, em estágio de tratamento, após manifestação de sinais e sintomas da doença. Os 18 voluntários apresentavam o critério de AIDS Complexo e um apresenta a linfadenopatia, e seis com outras infecções associadas. O grupo controle foi composto de 16 indivíduos saudáveis, idade próxima, que negaram o uso de antioxidantes, tabagismo e anticoncepcionais. O consentimento pós-informado foi mostrado a todos, todas as dúvidas foram esclarecidas e foi obtido o consentimento, segundo os Princípios Éticos da Resolução 196/96 do Ministério da Saúde.

Dosagem do Malondialdeído (MDA):

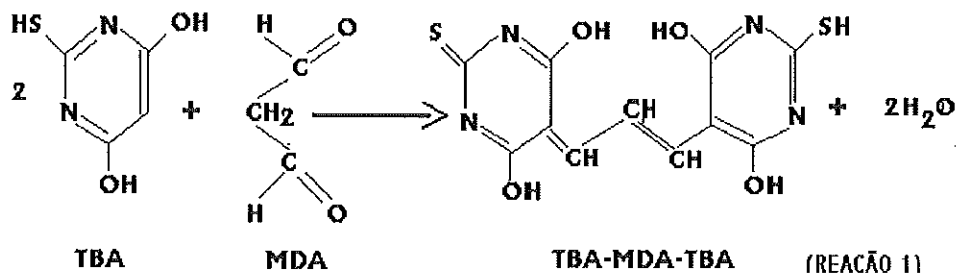
Introdução:

Princípio:

O método usado segue os fundamentos iniciais propostos por Kohn & Livesedge ⁽¹⁷⁾, com as condições químicas alteradas, segundo Percário, et al. ⁽¹⁸⁾. O método se baseia na reação do ácido tiobarbitúrico, em pH baixo e temperatura elevada, para formar o complexo MDA-TBA, de cor arroseada e absorção máxima em 535 nm.

Duas moléculas do ácido tiobarbitúrico (TBA) reagem com uma molécula de MDA, formando um complexo TBA-MDA-TBA de cor rósea (Reação 1), com absorbância em 535 nm.

Preparo das amostras:



Plasma heparinizado e homogeneizado de pulmão utilizado sem diluição.

Protocolo de dosagem:

	Branco	Padrão	Amostra
Água destilada	500 µl	-x-	-x-
Padrão	-x-	500 µl	-x-
Amostra	-x-	-x-	500 µl
Reagente TBA	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

- Misturar bem;
- Incubar a 95°C por 1 hora;
- Resfriar em água corrente;
- Adicionar 4,0 ml de álcool butílico (CAAL; 11413);
- Homogeneizar em vórtex (Phenix, AP56);
- Centrifugar a 2.500 rpm por 15 minutos;
- Colher 3,0 ml do sobrenadante para leitura espectrofotométrica em 535 nm. As cubetas foram mantidas a 25°C, e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Spetronic 88).

Curva Padrão:

A curva padrão de MDA (Fig.7) foi realizada pela diluição sucessiva do padrão de MDA, 1-1-3-3-tetraetoxipropano (Sigma; T-9889), a partir de uma solução 400 mM, conforme o protocolo abaixo:

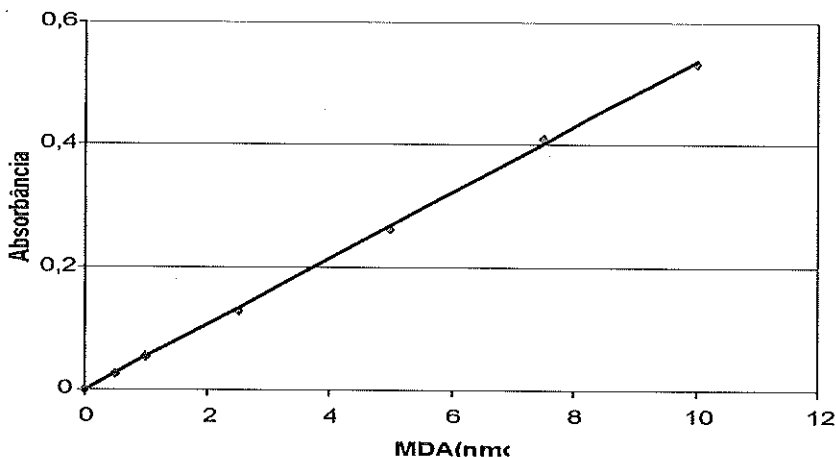


Figura 7. Curva padrão de MDA.

Com base nos dados e no gráfico apresentados acima, procedemos ao cálculo da equação da reta, utilizando a equação de mínimos quadrados e obtendo a seguinte equação da reta:

$$A = -0,002 + 0,054 \text{ MDA}$$

Os valores do MDA são expressos em ng/ml, sendo obtidos após aplicação do valor de absorbância lido para o desconhecido na fórmula abaixo.

$$\text{MDA} = \frac{A \text{ amostra} \times 440,6 \times f}{0,0237} \quad \text{onde } f = \frac{0,237}{A \text{ padrão}}$$

Com valores de normalidade : Soro ou Plasma = 0 – 440 ng/ml.

Resultados:

Para o MDA, os valores obtidos no grupo controle se aproximaram da normalidade, variando entre 124 e 518 ng/ml, já os valores do grupo de pacientes com AIDS foram superiores, variando de 709 a 1453 ng/ml (Fig. 8).

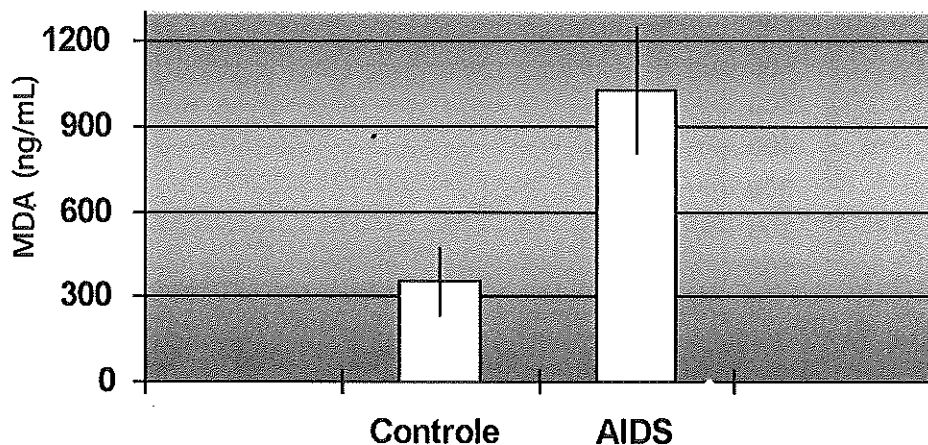


Figura 8. Valores médios de MDA para ambos os grupos

Outro achado interessante ocorreu quando comparamos os valores de CD4+ e MDA no grupo de portadores de AIDS, mostrando uma relação exponencial inversa, ou seja, quanto menores os valores de CD4+, maiores os valores de MDA (Fig. 9 e Fig. 10).

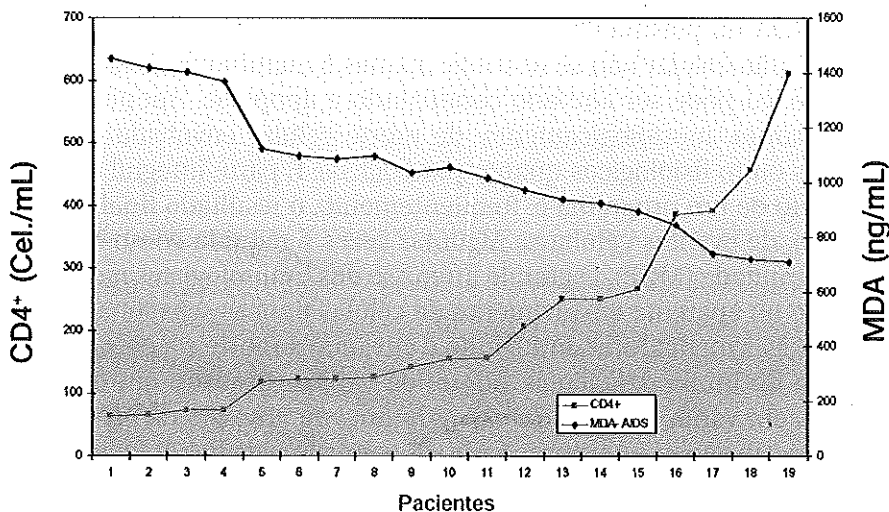


Figura 9. Valores de MDA e de CD4+ para os pacientes do grupo AIDS.

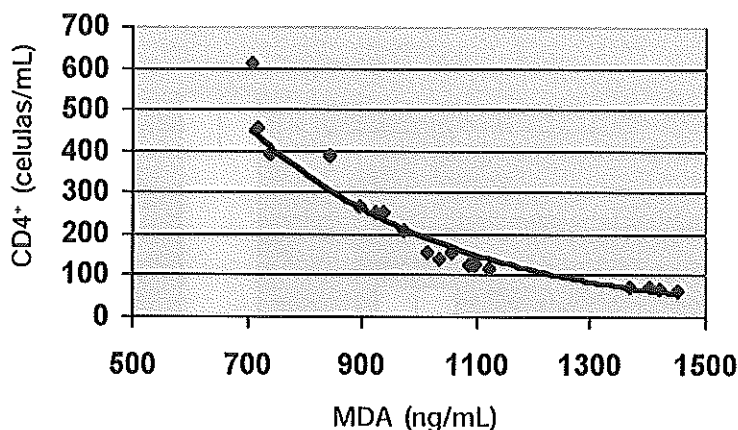


Figura 10. Correlação entre valores de MDA e CD4⁺ para pacientes do grupo AIDS ($r=-0,8712$).

Discussão:

O MDA no plasma dos pacientes do grupo AIDS foi significativamente maior ($p<0,01$) que para os pacientes do grupo controle, indicando um alto grau de peroxidação lipídica. Esse processo aparenta iniciar-se cedo no curso da doença; mesmo pacientes HIV assintomáticos têm elevados níveis de MDA no plasma ⁽¹⁹⁾

A agressão celular não se restringe apenas à membrana celular; seu código genético pode ser alterado conduzindo a apoptose. Apoptose é uma forma distinta, morfológica, de morte celular envolvida em vários processos tanto fisiológicos quanto patológicos. É parte integral do desenvolvimento de um programa e, frequentemente, o resultado final, no curso do tempo, de eventos celulares. Algumas vezes é referida como Morte Celular Programada (MCP). O grande interesse dos imunologistas na apoptose origina-se no aparente envolvimento de células tímicas selecionadas, células citotóxicas mediadoras, induzindo e ativando a morte e a patogênese na Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Baseado em evidências presentes em vários estudos, o resultado final da ativação da célula T (isto é, proliferação versus apoptose) pode ser regulado pela habilidade da célula em gerenciar o seu balanço oxidante – antioxidante ⁽¹⁸⁾. Estes dados estão de acordo com os dados obtidos no presente trabalho, tendo sido observada uma significativa correlação exponencial inversa ($r= 0,8712$) entre os

valores de MDA e o número de células CD4⁺, demonstrando claramente que o estresse oxidativo está relacionado, de alguma forma, ao mecanismo de destruição dessas células em pacientes portadores do vírus HIV.

Existe a hipótese que considera o estresse oxidativo como um mediador da apoptose, baseada na premissa de que foi vantajoso para os organismos multicelulares preservar os mecanismos oxidativos com o propósito de mediar formas de morte celular programada ⁽²⁰⁾. Adicionalmente, estresse oxidativo pode levar à oxidação dos lipídios das membranas celulares, onde espécies reativas do oxigênio reagem prontamente com ácidos graxos poliinsaturados e com o colesterol presente nas membranas induzindo a apoptose. Um particular interesse nesta reação é o ácido hidroperoxiecosatraenoico (HPETES), derivado oxigenado do ácido araquidônico. Os HPETES são potentes indutores do apoptose e, também, têm sido relatados como modificadores da homeostase do Ca⁺⁺ no citoplasma, talvez por depleção intracelular de GSH. É especulado que a indução à apoptose resulta de um certo programa de morte do gene que pode ser análogo ao Ced 3 ou Ced 4, genes identificados no nematóide *Caenorhabditis elegans*, que possuem um programa de morte celular. Isso possibilita a idéia de que as espécies reativas do oxigênio podem levar à ativação de um gene responsável pela morte celular, concebendo a noção de uma resposta ao estresse oxidativo a um fator nuclear de transcrição ⁽²⁰⁾.

Conforme descrito, a peroxidação lipídica pode levar a uma mutação do DNA e é importante na carcinogênese, nos mecanismos celulares de deterioração do sistema nervoso central (SNC) e no envelhecimento, evidenciado por acúmulo (no SNC) de pigmentos de lipofuscina (subprodutos polimerizados da oxidação dos lipídios poliinsaturados) quase que linearmente com o avançar da idade ⁽²¹⁻²²⁾.

O aumento dos níveis de MDA ocorre no decurso da doença de imunodeficiência adquirida independente do grau de imunodeficiência. Isto indica uma grande elevação na peroxidação lipídica em indivíduos com HIV, com doenças malignas ⁽²³⁾ e no envelhecimento prematuro. Também se atribui ao estresse oxidativo o desenvolvimento da demência ⁽²⁴⁾ que é frequentemente vista em pacientes com AIDS, já que depósitos de lipofuscina são encontradas no cérebro desses pacientes.

A importância dos marcadores está difundida e tem sido testada e aprovada nas mais diferentes especialidades. Outros estudos devem ser realizados, para evidenciar e projetar o malondialdeído como marcador e lançá-lo na prática médica diária.

REFERÊNCIAS

- BURCHAM, P. C. Genotoxic lipid peroxidation products: their DNA damaging properties and role in the formation of endogenous DNA adducts. *Mutagenesis*, n. 13, p. 287-305, 1998.
- BUTTKE, T. M.; SANDSTRON, P. A. Oxidative stress as a mediator of apoptosis. *Immunol. Today*, n. 15, p. 7-101, 1994.
- DE ZWART, L. L.; MEERMAN J. H. M.; VERMELUEN, N. P. E. Biomarkers of free radicals damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic. Biol.*, n. 26.; p. 202-226, 1999.
- FREEMAN, B. A.; CRAPO, J. D. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* n. 47, p. 412, 1982.
- GUTTERIDGE, J. M. C; ROWLEY, D. A.; HALLIWELL, B.; WESTERMARK T. Increased non-protein-bound iron and decreased protection against superoxide-radical damage in cerebrospinal fluid from patients with neuronal ceroid lipofuscinoses. *Lancet*, n. 1, 459-460, 1982.
- HALLIWELL B. Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidant: biomarker concept. *Nutr. Ver.*, n. 5, p. 104-113, 1999.
- HALLIWELL, B. Oxidants and human disease: some news concepts. *FASEB J.* n. 1, p. 358, 1987.
- HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J. M. C. *Free radicals in Biologic and Medicine*. 2. ed. Oxford: Clarendon Press, 1989.
- HARMAN, D. The ageing process. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, n. 78, p. 7124-7128, 1981.
- HIRAI,S.; OKAMOT, K.; MORIMATSU, M. Lipid peroxide in ageing process. In: YAGI, K. E. *Lipid peroxides in biology and medicine*. Orlando: Academic Press, 1982, pp. 305-315.
- IMALEY, J. A.; LINN, S. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science*, n. 240, p. 1302, 1988
- KLEBANOFF, S. G. Phagocytic cells: Products of oxygen metabolism. In: GALLIN, J. et al. (eds.): *Inflammation: basics principles and chemical correlates*. New York: Raven Press, 1988, p. 391-444.
- KOHLMULLER, D.; KOCHEN, W. Is n-pentane really in index of lipid peroxidation in human and animals? A Methodological reevaluation. *Anal Biochem.*, n. 210: 268-276, 1993.
- KOHN, H. I.; LIVERSEDGE, M. On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine, emetine, ergotamine, epinephrine, and medanione. *J. Pharmacol. Experimen. Ther.*, n. 82, p. 292-300, 1944.

- MARLET, L. J. Lipid peroxidation DNA damage by malondialdehyde. *Mutat. Res.*, n. 424, p. 83-95, 1999.
- MCCALL, M. R.; FREI, B. Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans. *Free Radic. Biol. Med.*, n. 26, p. 1034-1053, 1999.
- MORROW, J. D.; ROBERTA, L. G., The isoprostanes: unique bioactive product of lipid peroxidation. *Prog. Lipid. Ver.*, n. 36, p. 1-21, 1997.
- PERCÁRIO, S.; VITAL, A. C. C.; JABLONKA, F. Dosagem do Malondialdeído. *News-lab.*, v. 2, n., p. 46-50, 1994.
- PROODUFOOT, J.; BARDEN, A.; MORI, T. A.; BURKE, V.; CROF, K. D.; BEILING, L. J.; PUDDEY, I. B. Measurement of urinary F(2) isoprostanes as markers in vivo lipid peroxidation - a comparison of enzyme immunoassay with gas chromatography/mass spectrometry. *Anual Biochem.*, n. 272, p. 209-215, 1999.
- RABAUD, C.; TRONEL, H.; MACANTON, P.; NICOLAS, J. P. Radicaux libres et infection VIH / Free radicals and HIV infection. *Ann. Biol. Clin.*, n. 55, p. 565-571, 1997.
- RICHARD, M. G.; GUIRAUD, P.; MEO, J.; FAVIER, A. High-performance liquid chromatographic separation of malondialdehyde - Thiobarbituric acid adducts in biological materials (plasma and human cell) using a commercially available reagent. *J. Chromatogr.*, n. 577. p. 9-18, 1992.
- SONNERBORG, A.; CARLIN, G.; AKELUND, B.; JARSTRAND, C. Increased products of malondialdehyde in patients with HIV infection. *Scand. J. Infec. Dis.*, n. 20, p. 287-290, 1998.

Endereço do primeiro autor:

Rua Dr. Carlos Orsi Filho, 1518

Jardim Ibiti do Paço

18086-060 - Sorocaba, SP

E-mail: s.percario@bol.com.br

