



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2009/2010

Pedro José Magalhães Teixeira
Stress Oxidativo na Doença Renal Crónica

Abril, 2010

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Pedro José Magalhães Teixeira
Stress Oxidativo na Doença Renal Crónica

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Medicina - Nefrologia

**Trabalho efectuado sobre a Orientação de:
Professor Doutor Manuel Pestana**

Revista: Arquivos de Medicina

Abril, 2010

FMUP

Eu, Pedro José Magalhães Teixeira, abaixo assinado, nº mecanográfico 040801077, aluno do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter actuado com absoluta integridade na elaboração deste projecto de opção.

Neste sentido, confirmo que NÃO incorri em plágio (acto pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 19/04/2010

Assinatura: Pedro José Magalhães Teixeira

Nome: Pedro José Magalhães Teixeira

Endereço electrónico: m04077@med.up.pt

Título da Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio:

Stress Oxidativo na Doença Renal Crónica

Nome completo do Orientador:

Manuel Jesus Falcão Pestana Vasconcelos

Nome completo do Co-Orientador:

Ano de conclusão: 2010

Designação da área do projecto de opção:

Medicina – Nefrologia

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação/Monografia/Relatório de Estágio (*cutar o que não interessar*) apenas para efeitos de investigação, mediante declaração escrita do interessado, que a tal se compromete.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 19/04/2010

Assinatura: Pedro José Magalhães Teixeira

Agradecimentos

A disponibilidade, a cordialidade, os conhecimentos científicos bem como o espírito crítico do Professor Doutor Manuel Pestana foram extremamente úteis e bem-vindos durante a elaboração desta dissertação, motivo pelo qual não posso deixar de lhe prestar o meu sincero agradecimento.

Resumo

As Doenças Renais Crónicas (DRC) apresentam-se, cada vez mais, como um complexo e prevalente problema de saúde pública a nível mundial. Desta forma, nas últimas décadas têm sido feitos grandes esforços para prevenir ou para pelo menos retardar a progressão destas doenças, ao mesmo tempo que se tenta atenuar a elevada mortalidade cardiovascular à qual estão associadas. Contudo, as terapêuticas que visam o controlo da pressão arterial e o bloqueio do Sistema Renina-Angiotensina, têm-se revelado insuficientes para atingir os objectivos pretendidos, estudando-se, por isso, tratamentos alternativos, que visam, não só, actuar sobre a etiologia, mas também, sobre mecanismos de progressão e factores de risco cardiovascular que lhes estão associados. Neste contexto tem merecido crescente atenção o *Stress Oxidativo*, que parece estar implicado na patogénese das DRC, bem como nas condições patológicas que contribuem para o alto risco cardiovascular associado a estas doenças. O *Stress Oxidativo* pode ser visto como um desequilíbrio na relação das moléculas pró-oxidantes/anti-oxidantes, em detrimento das últimas, condicionando alterações a nível da homeostasia celular, que nas DRC poderão estar na base de processos inflamatórios, de lesões teciduais e da modificação do crescimento celular nos diferentes órgãos e sistemas do organismo, nomeadamente a nível cardiovascular. Revela-se por isso pertinente o estudo deste mecanismo fisiopatológico, bem como da potencial aplicação de terapêuticas anti-oxidantes no largo espectro de patologias renais em cuja patogénese o *Stress Oxidativo* poderá estar implicado.

Palavras - Chave

Doença Renal Crónica; Stress Oxidativo; Anti-oxidantes; Doenças Cardiovasculares; Hipertensão; Diálise.

Abstract

Chronic Kidney Diseases (CKD) present increasingly as a complex and prevalent Public Health problem worldwide. By this mean, in the last decades, major efforts have been made to prevent or at least delay the progression of this type of disease, while trying to mitigate the high cardiovascular mortality to which they are associated. However, treatments used to control blood pressure and block the renin-angiotensin system have proved to be insufficient for reaching the pretended goals. Therefore, developing alternative approaches focused not only on the treatment of different etiologies of the diseases, but also on the progression mechanisms and cardiovascular risk factors. In this context, *Oxidative Stress* has been emphasized; it appears to be implicated in the pathogenesis of CKD as well as in related pathological conditions that contribute to high cardiovascular risk. *Oxidative Stress* can be seen as an imbalance in the pro-oxidant/antioxidant molecules, with prejudice to the latter, causing a cellular homeostasis' disorder. In CKD patients, this is on the basis of inflammatory processes, tissue lesions and modification in cellular growth of several organs and organic systems, namely at cardiovascular level. Hence, it appears somehow relevant the study of this physiopathologic mechanism, as well as the potential application of antioxidant treatments in the large spectrum of kidney pathologies, in whom *Oxidative Stress* may be implied.

Key Words

Chronic Kidney Disease; Oxidative Stress; Antioxidants; Cardiovascular Diseases; Hypertension; Dialysis.

Índice

A.	Lista de Abreviaturas.....	Página 5
B.	Introdução.....	Página 6
C.	Doença Renal Crónica.....	Página 8
	• Epidemiologia.....	Página 8
	• Classificação.....	Página 8
D.	Stress Oxidativo.....	Página 10
	• O que é?.....	Página 10
	• Sistemas de defesa anti-oxidantes.....	Página 11
	• Biomarcadores de Stress Oxidativo.....	Página 12
E.	Stress Oxidativo na Doença Renal Crónica.....	Página 14
	• Lesão renal pelo Stress Oxidativo.....	Página 14
	• Implicações fisiopatológicas do Stress Oxidativo na Doença Renal Crónica.....	Página 15
F.	Terapêuticas anti-oxidantes com potencial relevância na Doença Renal Crónica.....	Página 19
	• Terapêuticas testadas em modelos animais.....	Página 19
	• Terapêuticas testadas no Homem.....	Página 20
	• Uma terapêutica para o futuro?.....	Página 22
G.	Conclusão.....	Página 23
H.	Referências.....	Página 24
I.	Tabelas e Figuras.....	Página 27

Lista de Abreviaturas

DRC – Doença Renal Crónica

DRCt – Doença Renal Crónica em estágio terminal

DCV – Doença cardiovascular

HTA – Hipertensão arterial

DM – Diabetes Mellitus

SO – Stress Oxidativo

SRO – Substâncias Reactivas derivadas do Oxigénio

EUA – Estados Unidos da América

TGF – Taxa de Filtração Glomerular

DSO – Dismutase do Superóxido

NADPH oxidase – “Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate oxidase”

NO – Óxido Nítrico

MAPK – Cínase de Proteínas activada por Agentes Mitogénicos

PKC – Proteína Cínase C

PCR – Proteína C Reactiva

Introdução

As Doenças Renais Crônicas (DRC) constituem um complexo problema de saúde pública a nível mundial, visto que a sua prevalência e a sua incidência têm aumentado de forma acentuada nos últimos anos. Assim, o número de pessoas atingidas, em todo o mundo, pelas DRC está em crescimento acelerado, bem como o número de doentes que atingem o estágio terminal das doenças renais crônicas (DRCt), com o qual se associa uma baixa esperança média de vida.

A doença cardiovascular (DCV) continua a ser para os doentes com DRC em estádios avançados, nomeadamente DRCt, a principal causa de morbilidade e mortalidade (1). No entanto, estudos demonstram que o risco aumentado para DCV não pode ser apenas explicado pelos factores de risco “tradicionais” (*ver tabela I*), comuns aos da população geral, como sejam, a hipertensão arterial (HTA), a idade avançada, a hipercolesterolemia, o tabagismo, a Diabetes Mellitus (DM) ou a hipertrofia ventricular esquerda, entre outros (2). Assim, recentes abordagens têm focado factores de risco considerados “não tradicionais” (*ver tabela I*), que se encontram associados às disfunções hemodinâmicas e metabólicas decorrentes da DRC, e dos quais se podem destacar, por exemplo, a anemia, a desnutrição, as alterações do metabolismo do cálcio e fósforo, a inflamação e o *Stress Oxidativo (SO)* (3). No caso concreto do *SO*, para além de estar implicado em condições patológicas que contribuem para o alto risco cardiovascular, parece, também, estar envolvido quer na própria patogénese quer na progressão das DRC.

O *SO* é considerado como uma perturbação do equilíbrio, que deve existir entre a produção de Substâncias Reactivas derivadas do Oxigénio (SRO) e os mecanismos de defesa anti-oxidantes do organismo, perturbação essa, que se pode dever ao aumento das SRO e/ou ao declínio dos mecanismos de defesa anti-oxidantes. Assim, o *SO*, através das SRO que rápida e facilmente reagem com biomoléculas (como o ADN, proteínas e lípidos), pode causar danos permanentes nos mais diversos tecidos do organismo (4,5).

Discute-se, actualmente, a necessidade de tratamentos multifacetados dirigidos contra causas específicas da DRC, os mecanismos de progressão da DRC e os factores de risco de DCV. Diferentes estudos tentaram clarificar a importância que o *SO* detém na DRC, seja como mecanismo implicado na patogénese, quando a causa advém de patologias como a HTA ou a DM; seja como consequência, contribuindo para as complicações cardiovasculares, neurológicas ou musculares da DRC. Estamos, portanto, perante uma rede complexa de mecanismos fisiopatológicos, que devem ser alvo de estudo mais aprofundado, e sobre os quais as terapêuticas anti-oxidantes poderão ter benefício, quer antagonizando a acção das SRO, quer aumentando a sua metabolização.

Doença Renal Crónica

Epidemiologia

As DRC constituem um problema de saúde pública de grande prevalência a nível mundial, de tal forma que nos Estados Unidos da América (EUA), em 2007, cerca de 527 000 doentes estavam a receber tratamento para DRCt, calculando-se que 15,1% da população adulta se encontrava num qualquer estágio de DRC (6). Com um aumento anual na incidência de novos casos de DRCt na ordem dos 6-8%, pensa-se que no final de 2010 haverá cerca de 661 000 doentes com DRCt nos EUA. Para além disso, convém realçar que a DRCt é responsável por uma mortalidade elevada, que varia geograficamente, tendo sido, em 2002, de 7% no Japão, de 16% na Europa e de 22% nos EUA (7).

Classificação

A probabilidade de desenvolver uma DRC é influenciada por diversos factores de risco, que podem estar presentes mesmo em indivíduos com Taxa de Filtração Glomerular (TFG) normal, e dos quais se destacam, a HTA, a DM, as doenças auto-imunes, a idade avançada, a ascendência africana e a história familiar de DRC, entre outros. Deve-se, no entanto, salientar que a principal causa de DRC é a nefropatia diabética, secundária à DM tipo 2, seguida pela nefropatia hipertensiva, que é muito comum nos idosos.

Com o objectivo de saber em que estágio se encontra um doente renal crónico, deve fazer-se a estimativa da TFG ($\text{mL}/\text{minuto}/1,73\text{m}^2$), que funciona como factor de monitorização da função renal. Para o efeito, pode-se usar a equação de Cockcroft-Gault, que incorpora nas suas variáveis a concentração plasmática da creatinina, a idade, o sexo e o peso. Desta forma, é possível classificar a DRC nos seguintes estádios: *estádio 0*, em que o doente não tem sinais nem sintomas, a sua TFG é superior a 90 mL/minuto, mas existem factores de risco associados; o *estádio 1* (com TFG superior ou igual a 90 mL/minuto) e *estádio 2* (com TFG entre 60 e 89 mL/minuto), nos quais o doente não tem sintomas ou sinais relacionados com a redução da TFG, mas apresenta lesão renal evidenciada por

anormalidades imagiológicas e/ou laboratoriais no sangue e/ou na urina; o *estádio 3* (com TFG entre 30 e 59 mL/minuto) e o *estádio 4* (com TFG entre 15 e 29 mL/minuto), que cursam com manifestações clínicas (anemia, fadiga e anorexia) e laboratoriais (alterações hormonais) proeminentes, embora a sintomatologia apareça, geralmente, apenas quando se atinge o *estádio 4*; e por fim o *estádio 5*, com TFG inferior a 15 mL/minuto, no qual se atinge a DRcT, sendo necessário realizar terapêutica de substituição renal (diálise ou transplante), pois caso contrário o estado urémico, causado pela acumulação de toxinas e pelos distúrbios hidro-electrolíticos, levará à morte do doente.

Para além da TFG, a quantificação da albuminúria e/ou proteinúria também pode ajudar a monitorizar a progressão da doença, bem como a sua resposta ao tratamento, nomeadamente nas doenças glomerulares crónicas. A albuminúria e a proteinúria devem ser em circunstâncias normais, inferiores a 30 mg/dia e 150mg/dia, respectivamente, sendo que uma proteinúria acima dos 300 mg/dia torna-se clinicamente relevante (8).

Com base nestas classificações, uma perspectiva ideal de tratamento, para prevenir ou retardar a evolução da DRc, seria reduzir a proteinúria na urina para valores inferiores a 500 mg/dia e o declínio da TFG para menos de 1mL/minuto/ano, que será a média de decrescimento devido à idade. No entanto, estes objectivos estão ainda longe de ser atingidos com as actuais terapêuticas disponíveis, sendo por isso necessário procurar alternativas eficazes (7).

Stress Oxidativo

O que é?

As células do organismo humano produzem constantemente SRO, seja como produtos finais do metabolismo aeróbio, a nível das mitocôndrias, seja por captação exógena a partir do meio extracelular, ou ainda como consequência da resposta à exposição a um agressor celular (9). Estas SRO, apesar dos efeitos nefastos conhecidos, que abaixo são referenciados, realizam funções fundamentais para as células, como por exemplo, a sinalização de moléculas ou a activação de leucócitos e macrófagos para a defesa contra organismos invasores (10,11). No entanto, é necessário controlar a produção de SRO, para assim permitir manter a homeostasia celular, existindo, para isso, um conjunto de sistemas de defesa anti-oxidantes, constituídos por enzimas anti-oxidantes e anti-oxidantes endógenos ou da dieta. Quando este equilíbrio de forças sofre uma perturbação, ou porque se estão a produzir mais SRO, ou porque os sistemas de defesa anti-oxidantes estão por alguma razão debilitados, estamos perante *SO*. Consequentemente, as SRO ficam em condições de reagir rápida e facilmente com o ADN, as proteínas, os lípidos e os hidratos de carbono, podendo causar inflamação, apoptose, fibrose e proliferação celular (10).

Nos organismos aeróbios, o O_2 é o aceitador final de electrões de uma cadeia complexa de reacções que levam à formação de fosfatos de alta energia, através da acção de uma enzima, a oxídase do citocromo (12). Como resultado desta cadeia de reacções surge acumulação de SRO, sendo que a primeira a ser produzida é o anião superóxido, por redução do oxigénio molecular com um electrão. Este, por sua vez, pode dar origem ao peróxido de hidrogénio na presença da dismutase do superóxido (DSO). Depois, em condições normais, o peróxido de hidrogénio poderá ser reduzido a água e a O_2 pela catalase ou pela peroxidase do glutatião. No entanto, se o peróxido de hidrogénio estiver na presença de metais de transição livres, como o cobre ou o ferro, ou em presença de quantidades excessivas de superóxido surge a formação de radicais hidroxilos (-OH), que são as SRO mais citotóxicas conhecidas, e que podem provocar peroxidação da membrana lipídica ou originar aldeídos reactivos, bem como causar morte celular. Há ainda uma outra fonte importante de SRO, *in vivo*, que é

o complexo enzimático do qual faz parte a “nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase” (NADPH oxidase), considerada, por alguns autores, como a fonte principal de SRO no sistema cardiovascular. A sua isoforma, a Nephrox, é por sua vez a principal produtora de SRO nas células epiteliais tubulares do rim (10).

Sistemas de defesa anti-oxidantes

O organismo humano tem diferentes sistemas de defesa anti-oxidantes, que são dirigidos contra as SRO, que estão constantemente a ser produzidas e que podem provocar lesão celular, a menos que sejam neutralizadas ou eliminadas. Estes sistemas de defesa têm, por isso, o objectivo último de manter a homeostasia em termos de equilíbrio oxi-redução.

Desta defesa anti-oxidante fazem parte múltiplos sistemas enzimáticos e não enzimáticos, que levam à eliminação das SRO, nomeadamente do peróxido de hidrogénio. Estes sistemas estão agrupados em três grupos principais: enzimas anti-oxidantes, antioxidantes de quebra de cadeia e proteínas de ligação a metais de transição.

Enzimas anti-oxidantes: catalisam a reacção de “destruição” das SRO. Destacam-se a *Catálase*, que catalisa o peróxido de hidrogénio e que, apesar de não ser essencial para a sobrevivência, intervém na aquisição de tolerância ao *Stress Oxidativo*; a *Peroxídase do Glutatião*, que também catalisa o peróxido de hidrogénio através da doação de um H^+ pelo glutatião, e que protege as células contra a peroxidação lipídica; e ainda a *Dismutase do Superóxido*, que catalisa a conversão do superóxido em peróxido de hidrogénio e O_2 , prevenindo a lesão celular provocada pela acumulação deste anião altamente reactivo (12).

Anti-oxidantes de quebra de cadeia: são poderosos doadores de electrões que reagem preferencialmente com radicais livres, antes destes danificarem biomoléculas fundamentais. Os mais referenciados são: a *vitamina E*, que é um anti-oxidante lipofílico, cuja forma mais abundante no nosso organismo é o α -tocoferol, que protege a membrana lipídica das células contra oxidantes,

podendo ser regenerada após reacção com outros anti-oxidantes; a *vitamina C*, um anti-oxidante hidrofílico, que funciona como “varredor” de radicais livres, podendo também regenerar outras moléculas anti-oxidantes; os *carotenos*, como o α - e β -carotenos que previnem a peroxidação lipídica, eliminando o oxigénio simples; os *flavenóides*, componentes polifenólicos encontrados em plantas, com acção anti-oxidante, anti-inflamatória e antiviral, que são quelantes de metais e neutralizadores de radicais livres; e o *Glutatião*, um tripeptídeo que contém cisteína, e que é o anti-oxidante produzido em maior abundância pelo organismo, sendo responsável pela transferência de equivalentes redutores (12).

Proteínas de ligação a metais de transição: são metaloproteínas que intervêm na homeostase dos metais e previnem a ligação de metais de transição, como o cobre e o ferro, com SRO, evitando a formação de novas SRO ainda mais reactivas. Destacam-se a *ceruloplasmina*, a *albumina*, a *transferrina* e a *lactoferrina* (12).

Apesar de muitos dos sistemas referidos serem considerados ubiquitários, a sua expressão tem diferentes níveis, que variam de tecido para tecido. A título de exemplo, pode referir-se que as células medulares do rim toleram muito melhor o *SO*, quando comparadas com outros tipos de células, porque os níveis constitucionais de enzimas anti-oxidantes são muito superiores (11).

Biomarcadores de Stress Oxidativo

Para o estudo da relação do *SO* com a etiologia de diferentes doenças, torna-se necessário identificar a sua presença *in vivo*. Apesar da identificação e quantificação directa das SRO ser a forma lógica de analisar a presença de *SO*, tal não é praticável, porque as SRO têm semi-vidas biológicas muito curtas e concentrações muito baixas. Por isso, opta-se pela análise de produtos finais da oxidação, que são mais estáveis e que, portanto, podem ser usados como biomarcadores (*ver tabela II*), uma vez que correspondem ao resultado da acção do *SO* sobre biomoléculas importantes, como proteínas, lípidos,

ADN e hidratos de carbono (4). Destes biomarcadores, os mais usados são o malondialdeído, os isoprostanos-F2, as LDL oxidadas e as proteínas carboniladas.

Stress Oxidativo na Doença Renal Crônica

Lesão Renal pelo Stress Oxidativo

O *SO* está presente em diferentes patologias, que podem contribuir para o aparecimento e/ou agravamento das DRC, como são o caso da DM, da HTA e da insuficiência cardíaca congestiva (*ver figura 1*). Assim, tal como refere Futrakul *et al.* (13), pensa-se que o *SO* associado a essas patologias, poderá estar implicado na patogénese das DRC, condicionando lesão celular permanente a nível renal, através de uma resposta celular constituída pelo aumento da libertação de substâncias vasoconstritoras, como a angiotensina II, a endotelina e o tromboxano A₂, e pela neutralização do óxido nítrico (NO), um conhecido vasodilatador. A angiotensina II é simultaneamente responsável pela activação e/ou pela regulação positiva da produção de NADPH oxidase através da activação dos receptores para a angiotensina I (10), contribuindo desta forma para a perpetuação deste mecanismo. Em consequência, gera-se uma alteração hemodinâmica, com vasoconstrição predominante da arteríola eferente, aumentando a pressão hidrostática intraglomerular e reduzindo o fluxo capilar peritubular (13).

A redução exagerada do fluxo capilar peritubular, resultante desta alteração hemodinâmica, provoca então isquemia e aumento da produção de SRO e do factor nuclear kappa-B, o qual leva a regulação positiva da expressão de genes pró-inflamatórios. Tudo isto induz isquemia e subsequente fibrose no compartimento túbulo-intersticial, comprometendo a função renal, por lesão dos nefrónios (13).

Das patologias que podem provocar ou agravar as DRC, as mais frequentes são a DM e a HTA.

DM: diferentes estudos têm apresentado evidências do envolvimento do *SO* nas complicações resultantes da DM. A hiperglicemia, que está associada a esta patologia, parece ser responsável pela produção aumentada de SRO e pela atenuação dos mecanismos de defesa anti-oxidantes (14,15).

Desta forma, o *SO* parece contribuir para o aparecimento de nefropatia diabética, e consequentemente de DRC, através da activação da cínase de proteínas activada por agentes mitogénicos (MAPK), da proteína cínase C (PKC) e também da formação de produtos finais de glicação avançada. Para além disso, num estudo realizado com a ajuda de um marcador fluorescente (o diacetato de 2',7'-

diclorofluoresceína) foi possível verificar a presença de SRO, através da identificação dos seus metabolitos finais de oxidação (como é o caso dos lípidos peroxidados), a nível dos glomérulos renais de ratos nas fases iniciais de doença diabética, confirmando o envolvimento primário do *SO* nas complicações renais resultantes desta patologia (16).

HTA: apesar de vários estudos demonstrarem que o *SO* está presente na patogénese e manutenção da HTA, poucos evidenciaram o efeito da HTA na produção de *SO*. Este facto deve-se talvez à grande dificuldade de conseguir isolar o “factor HTA”, dos restantes factores, humorais e hormonais. Para ultrapassar esta dificuldade foi criado um modelo animal em ratos, tendo sido provocada uma coartação da aorta abdominal acima do nível das artérias renais, possibilitando, desta forma, estudar os tecidos que estavam sujeitos a pressões arteriais elevadas (acima da coartação), comparando-os com os tecidos da zona sujeita a pressões arteriais normais (abaixo da coartação), que serviam como controlo. Os resultados demonstraram forte evidência de *SO* na zona acima da coartação, com inactivação do NO por SRO. Em estudos posteriores, pelo mesmo autor, foi encontrada, acima da coartação, uma regulação positiva da produção de NADPH oxídase, produtora de SRO, que pode ser provocada, eventualmente, pela angiotensina II, como referido acima (10). Estas alterações poderão, pelos mecanismos acima referidos, participar na patogénese da DRC com origem na HTA.

Implicações fisiopatológicas do Stress Oxidativo na Doença Renal Crónica

Nas DRC, o *SO* pode, por sua vez, estar envolvido em mecanismos celulares implicados na aterosclerose, na HTA, em algumas patologias cardíacas, neurológicas e musculares, bem como em outras patologias que tenham componente inflamatória. O *SO*, associado às DRC, parece também condicionar um risco acrescido de DCV (*ver figura 1*), uma vez que pode participar em mecanismos de lesão celular de outros factores de risco de DCV.

O estado urémico, presente nos estádios mais avançados de DRC, cursa com: presença de grande quantidade de SRO, tal como o anião superóxido e os aldeídos reactivos (resultantes da diminuição do

catabolismo renal e aumento da sua produção pela via de activação de células fagocíticas); aumento da quantidade de proteínas com grupos tiol oxidados (como o glutatião, que desta forma perde a sua função anti-oxidante); aumento dos produtos resultantes da peroxidação lipídica e consequente aparecimento de anti-corpos anti-LDL oxidada; proteína C reactiva (PCR) e citocinas aumentadas; anemia (por diminuição da semi-vida eritrocitária); entre outros. Para além disto, a hemodiálise, realizada nos doentes com DRCt, contribui também para o *SO*, visto que: remove vitaminas hidrossolúveis, debilitando a defesa anti-oxidante; diminui ainda mais a quantidade de proteínas plasmáticas, com grupos tiol reduzidos, e de peroxidase do glutatião (4); aumenta a formação de SRO devido à exposição dos leucócitos às membranas de hemodiálise. Deve-se ainda realçar, que apesar da hemodiálise remover também SRO, esta acção é desprezível quando comparada com os efeitos pró-oxidantes que esta pode provocar (2).

Percebe-se, desta forma, que o *SO* resultante dos estados urémicos possa então estar, possivelmente, implicado na etiologia de diferentes condições patológicas, que podem ser ou não factores de risco de DCV.

Inflamação: parece estar na base de diferentes tipos de patologias, apresentando uma estreita inter-relação com o *SO*, de tal forma que este pode provocar inflamação e vice-versa (10). O *SO*, por intermédio das SRO, provoca activação de um factor de transcrição, o factor nuclear kappa-B, que leva: ao aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias e de proteínas plasmáticas de inflamação aguda, como a PCR; à quimiotaxia; e à produção de moléculas de adesão celular, contribuindo, desta forma, para a inflamação (1). Simultaneamente, a inflamação produz novas SRO por acção dos leucócitos e monócitos (10), libertando também grandes quantidades de enzima mieloperoxidase, que regula a disponibilidade vascular de NO, uma vez que pode funcionar como NO oxidase (1). A inflamação e o *SO* estão, por isso, envolvidos num ciclo vicioso que contribui para diferentes complicações das DRC (10). Vários estudos recentes têm demonstrado a relação entre o aumento da inflamação, a hipoalbuminemia e o *SO* nos doentes em hemodiálise, nos quais 30-50% têm evidência serológica dessa inflamação. Os níveis plasmáticos de citocinas pró-inflamatórias, nomeadamente a

IL-6, e a PCR parecem ser dos factores preditores de risco de evento cardiovascular mais fiáveis, ultrapassando o valor prognóstico dos níveis de LDL-colesterol (4).

Aterosclerose: diferentes factores parecem predispor para o desenvolvimento de doença aterosclerótica, como por exemplo, a hipercolesterolemia, a DM, o consumo de tabaco e a DRC. No caso específico das DRC, o *SO* parece ser um fenómeno biológico generalizado, que contribui para a patogénese da doença aterosclerótica. Steinberg *et al.* avançou a hipótese de as LDL, quando oxidadas aumentarem de forma marcada o seu potencial aterogénico, ligando-se a receptores nos monócitos, e induzindo a transformação destes em “células espumosas”, o que constitui um dos primeiros passos no processo aterosclerótico. Para além disso, o *SO*, através das SRO, estimula a proliferação e a migração de células musculares lisas da parede vascular; potencia a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-6) e PCR, por regulação positiva da transcrição; activa diferentes metaloproteinases da matriz celular, conferindo instabilidade ou mesmo ruptura da placa aterosclerótica; e causa diminuição do NO livre, ao mesmo tempo que por reacção com o anião superóxido origina o peroxinitrito, que é altamente tóxico para a parede vascular (1).

HTA: a acção do *SO* na patogénese da HTA, parece ocorrer na presença de peroxidação lipídica, de inactivação e diminuição das concentrações basais de NO por SRO, de nitração proteica e de produção de isoprostanos vasoconstritores por oxidação do ácido araquidónico (10). Tal como referido, a inactivação do NO ocorre por acção das SRO, impedindo a ocorrência de um conjunto de acções fundamentais a nível renal, tais como a prevenção da reabsorção tubular de sódio (Na), a nível da porção espessa ascendente da ansa de Henle, e a atenuação do mecanismo de retro-activação túbulo-glomerular. Consequentemente, esta inactivação do NO leva a reabsorção excessiva de Na e ao aumento da taxa de filtração glomerular, respectivamente, contribuindo para a HTA (17).

Patologia Cardíaca: o *SO* associado à DRC parece provocar remodelação da estrutura cardíaca, com hipertrofia ventricular esquerda, fibrose miocárdica, hipertrofia dos cardiomiócitos e espessamento das artérias intramiocárdicas. Mais uma vez, o aumento da actividade e/ou da expressão da NADPH oxidase, por intermédio da angiotensina II, mostra-se como o passo inicial para desencadear estas

alterações (18). Para além disso, como já vimos, o *SO* favorece a ocorrência de fenómenos inflamatórios que cursam com a elevação da PCR, a qual pode reduzir a contractilidade cardíaca, através dos efeitos que exerce a nível das células endoteliais cardíacas (1).

Patologia Neurológica: as neuropatias centrais e periféricas são complicações conhecidas dos estádios avançados das DRC. O facto de neste tipo de tecidos haver uma grande quantidade de ácidos gordos poli-insaturados, torna-os particularmente susceptíveis à oxidação pelas SRO. Para além disso, as SRO causam excitotoxicidade, levando ao aumento do cálcio intracelular; à activação neuronal da síntese do NO; à formação e acumulação de nitrotirosina (produto final da interacção SRO-NO-tirosina); à nitração proteica; à lesão mitocondrial; e à lesão e/ou morte celular (10). É, também, frequentemente referida a existência de uma encefalopatia urémica, associada às DRC, a qual provoca disfunção cerebral com diversos tipos de manifestações neurológicas e psiquiátricas (19).

Patologia Muscular: a fraqueza muscular e a diminuição da capacidade de exercício físico são queixas frequentes dos doentes em estado urémico. Isto deve-se à lesão oxidativa que ocorre a nível das proteínas e lípidos que constituem o músculo esquelético. No caso dos doentes com DRCt que se encontram a fazer hemodiálise, os níveis de *SO* são ainda mais elevados, parecendo intervir de forma activa na patogénese da miopatia esquelética (20).

Terapêuticas anti-oxidantes com potencial relevância na Doença Renal Crônica

O *SO* parece, tal como já foi referido, estar na base de diferentes tipos de patologias, nomeadamente das crónicas. Será, portanto, lógico pensar que a terapêutica anti-oxidante poderá ser uma contribuição importante para o controlo e o tratamento destas, principalmente no que às DRC diz respeito. Como seria de esperar, grande parte dos estudos, realizados sobre a eficácia das terapêuticas anti-oxidantes, centram-se na acção destas sobre os diferentes factores de risco de DCV em que o *SO* está potencialmente implicado. No entanto, os mecanismos de acção e a eficácia destas terapêuticas estão na maior parte dos casos pouco estudados, não só porque a acção anti-oxidante de algumas substâncias só foi descoberta recentemente, mas também porque é difícil isolar essa mesma acção *in vivo*, devido às complexas interacções existentes entre diferentes anti-oxidantes.

Assim, diferentes tipos de terapêuticas anti-oxidantes foram, e continuam a ser, alvo de estudo, quer em modelos animais quer no Homem, com o intuito de demonstrar o benefício destas na redução do *SO*, e do conseqüente risco cardiovascular das pessoas com DRC.

Terapêuticas testadas em modelos animais

Vitamina E: um estudo testou, durante 12 semanas, a acção terapêutica de 3000 UI/Kg peso corporal/semana de α -tocoferol em 28 ratos com DRC, após nefrectomia parcial. Os resultados mostraram a prevenção da desregulação da relação cardiomiócitos/capilares e da fibrose miocárdica, por provável controlo do *SO* (18). Um outro estudo avaliou o efeito, em ratos com nefrectomia parcial, de uma alimentação com reforço anti-oxidante de vitamina E com 5000 UI/Kg de comida, comparativamente a uma alimentação vulgar, com quantidade normal de vitamina E, 40 UI/Kg de comida. Os resultados mostraram que nos ratos que foram alimentados com alta dose de vitamina E, houve melhoria da HTA associada à DRC e aumento da produção vascular de NO (21).

Lazaroide: é um amino-esteróide com acção anti-oxidante, que foi usado juntamente com o captopril em ratos com DRC, induzida por nefrectomia parcial. Passadas 6 semanas, foi analisada por Western-

blotting a presença e a distribuição de nitrotirosina no cérebro dos ratos e foi demonstrada uma melhoria nos níveis de *SO*, por medição do melondialdeído plasmático, bem como uma diminuição nos níveis de nitrotirosina no cérebro, nos ratos que realizaram terapêutica (19).

Terapêuticas testadas no Homem

Vitamina E: muitos estudos realizados com vitamina E em doses iguais ou inferiores a 400 UI/dia não mostraram qualquer efeito no risco cardiovascular. Contudo, doses de 800 UI/dia revelaram nos estudos CHAOS e SPACE diminuição dos eventos cardiovasculares (17), mas sem alteração da mortalidade final. Recentemente foi demonstrado que o γ -tocoferol nos doentes em diálise poderá ter maior eficácia na redução dos níveis da PCR na inflamação, quando comparado com o α -tocoferol (1). Num outro estudo, o uso de 800 UI/dia durante 8 semanas, demonstrou aumentar a disponibilidade de NO em doentes com DRC, mas sem provocar alteração significativa nos níveis do biomarcador de *SO* usado, o isoprostano-F2 (22).

Vitamina C: apesar de haver diferentes resultados nos estudos, parece que a vitamina C quando usada no tratamento de doentes hipertensos pode contribuir para reduzir os valores da pressão arterial (17). Contudo, é necessária atenção no seu uso, uma vez que se administrada em concentrações elevadas, juntamente com altos níveis de ferro pode levar a conversão do ião férrico ao seu estado ferroso, favorecendo a formação do radical hidroxilo, altamente reactivo (23).

Vitamina E + C: a vitamina C é muitas vezes associada à vitamina E, uma vez que quando combinadas parecem ser mais efectivas no ataque aos radicais livres nas membranas lipídicas e no citoplasma. Um estudo em 15 doentes com síndrome nefrótico idiopático e em 9 com DRC, usou terapêutica com um inibidor da enzima de conversão da angiotensina ou bloqueador do receptor da angiotensina II, associado a um bloqueador do canal de cálcio e agente antiplaquetário, complementada com a administração diária de 800 UI de vitamina E e de 1000-3000 mg de vitamina C, tendo demonstrado correcção do desajuste hemodinâmico provocado pelo *SO* (ver supra), e melhoria da função renal (13).

N-acetilcisteína: um estudo com doentes em hemodiálise demonstrou que o tratamento com um tiol, contendo o anti-oxidante N-acetilcisteína, reduziu o número de eventos cardiovasculares comparativamente com o grupo placebo, mas não alterou a mortalidade total (24).

Vitamina E + Pravastatina + terapêutica para homocisteinemia: esta estratégia terapêutica anti-oxidante foi usada num estudo (ATIC) com 93 doentes, com DRC em estádios de 2 a 4 e com pressão arterial controlada, durante dois anos. Os resultados revelaram diminuição dos eventos cardiovasculares, dos níveis da LDL oxidada (biomarcador de *SO*) e da albumina urinária, sem modificação da TFG (25).

Membranas biológicas para hemodiálise com vitamina E (α -tocoferol): diferentes estudos demonstram que as membranas de hemodiálise revestidas com vitamina E (Excebrane®) permitem obter melhorias nos níveis de vitamina E séricos, de viscosidade eritrocitária, de disfunção endotelial e dos biomarcadores do *SO*, quando comparados com os doentes tratados com membranas tradicionais (24). Um outro estudo, em 17 doentes com DRCT, que fizeram hemodiálise com este tipo de membranas durante 10 semanas, revelou que os níveis de activação de leucócitos durante a hemodiálise diminuíram, bem como os níveis de SRO, por análise do biomarcador melondialdeído plasmático. Além disso, os níveis de glutatião eritrocitário aumentaram. Contudo, convém realçar que a concentração total de anti-oxidantes plasmáticos parece ter diminuído de igual forma para os dois tipos de membranas, quer tradicionais quer Excebrane®, durante a hemodiálise. Isto pode ser explicado pelo facto do α -tocoferol lipossolúvel reagir com o ácido ascórbico hidrossolúvel, pelo menos *in vitro*, levando ao consumo deste último e, à consequente diminuição da concentração total de anti-oxidantes (26).

Uma terapêutica para o futuro?

Muitos estudos demonstram a eficácia das terapêuticas anti-oxidantes, nomeadamente da vitamina E (α -tocoferol), nos doentes com estádios avançados de DRC, através da diminuição da pressão arterial e da quantidade de biomarcadores do SO. Apesar disto, estes mesmos estudos revelam que estas terapêuticas parecem não ter repercussão ao nível da mortalidade total. Para além disso, há alguns estudos que não comprovam a eficácia destas terapêuticas na população em geral, não sendo por isso recomendadas para prevenção cardiovascular primária nem secundária (1). Outros ainda defendem que as terapêuticas anti-oxidantes não devem ser indicadas para uso rotineiro nos doentes urémicos sem estudos mais exaustivos, enquanto que outros autores concluem que não há qualquer tipo de benefício na aplicação destas terapêuticas (1,4). Constata-se, por isso, que há uma certa falta de consenso sobre este tema, o que torna incerta a eficácia real e a fiabilidade da aplicação de terapêuticas anti-oxidantes na DRC.

Existem algumas explicações possíveis para o facto de alguns estudos não mostrarem eficácia: 1) a terapêutica anti-oxidante é usada numa fase tardia, em que já ocorreu lesão molecular e/ou morte celular; 2) ainda não está claro, quais os anti-oxidantes e respectivas doses a usar, fazendo com que muitas vezes se usem doses subterapêuticas; 3) alguns indivíduos podem reagir de forma paradoxal à terapêutica, exacerbando as suas patologias (20); 4) concentrações elevadas de anti-oxidantes podem comprometer o balanço delicado entre oxidantes/anti-oxidantes, fazendo com que estes possam, eles próprios, favorecer a oxidação; 5) alguns anti-oxidantes só actuam na presença de outros anti-oxidantes; 6) os estudos usam amostras pequenas e um período curto de tratamento (23).

Por fim, é necessário pensar que as terapêuticas anti-oxidantes não devem ser vistas como a terapêutica principal do indivíduo, mas sim como parte de uma terapêutica multifacetada, que contempla não só as terapêuticas etiológicas da DRC, mas também factores de progressão, factores de risco de DCV e fontes produtoras de SRO (controlo da hiperglicemia, da HTA, da dislipidemia, das infecções, da uremia, entre outros).

Conclusão

O *SO* encontra-se aparentemente relacionado com a patogénese das DRC, mas, também, com diferentes estados patológicos que advêm destas, muitos dos quais são eles próprios factores de risco para DCV. Apesar de ser considerado um factor de risco “não tradicional” para DCV, o *SO* parece desempenhar um papel relevante e preditivo no risco de DCV causado pelas DRC, sendo, por isso, cada vez mais, alvo de estudos científicos com vista a esclarecer a sua origem e os seus mecanismos de acção, e, ainda, a potencial aplicabilidade de terapêuticas anti-oxidantes. Embora existam estudos, quer em modelos animais, quer no Homem, que sugerem a acção benéfica destas terapêuticas na redução do número de eventos cardiovasculares, mantêm-se ainda bastantes dúvidas quanto à sua fiabilidade e eficácia. Assim, parece evidente a necessidade de realizar estudos ainda mais detalhados sobre esta problemática, que explicitem os mecanismos de acção do *SO* e que indiquem as terapêuticas anti-oxidantes realmente eficazes.

Referências

1. Himmelfarb J. Linking Oxidative Stress and Inflammation in Kidney Disease: Which is the Chicken and Which is the Egg?. *Semin Dial* 2004; 17:449-54.
2. Kitiyakara C, Gonin J, Massy Z, Wilcox CS. Non-traditional cardiovascular disease risk factors in end-stage renal disease: oxidative stress and hyperhomocysteinemia. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000; 9:477-87.
3. Canziani MEF. Doenças Cardiovasculares na Doença Renal Crônica. *J Bras Nefrol* 2004; 26 (3 Suppl 1):20-1.
4. Jonathan Himmelfarb J, Hakim RM. Oxidative stress in uremia. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003; 12:593-598.
5. Montesa MJP, Rico MAR, Salguero MAS, Maicas IT, Muñoz MCT, Tormo GS, García IJ, Carrasco AM. Study of oxidative stress in advanced kidney disease. *Nefrologia* 2009; 29:464-73.
6. National Institutes of Health, Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. United States Renal Data System, Annual Data Report. Bethesda, MD;2009.
7. Jaber BL, Madias NE. Progression of chronic kidney disease: Can it be prevented or arrested?. *Am J Med* 2005;118: 1323-30.
8. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th ed. United States of America: The McGraw-Hill Companies;2007.
9. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular Response to Oxidative Stress: Signaling for Suicide and Survival. *J Cell Physiol* 2002; 192:1-15.

10. Vaziri ND. Roles of oxidative stress and antioxidant therapy in chronic kidney disease and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2004; 13:93-9.
11. Kültz D. Molecular and evolutionary basis of the cellular stress response. *Annu Rev Physiol* 2005; 67:225-57.
12. Rojkind M, Domínguez-Rosales JA, Nieto N, Greenwel P. Role of hydrogen peroxide and oxidative stress in healing responses. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59:1872-91.
13. Futrakul N, Tosukhowong P, Valyapongpichit Y, Tipprukmas N, Futrakul P, Patumraj S. Oxidative Stress and Hemodynamic Maladjustment in Chronic Renal Disease: a therapeutic implication. *Ren Fail* 2002; 24:433-45.
14. Ha H, Kim KH. Pathogenesis of diabetic nephropathy: the role of oxidative stress and protein kinase C. *Diabetes Res Clin Pract* 1999; 45:147-51.
15. Baynes JW, Thorpe SR. Role of Oxidative Stress in Diabetic Complications. A New Perspective on an Old Paradigm. *Diabetes* 1999; 48:1-9.
16. Koya D, Yashi K, Kitada M, Kashiwagi A, Kikkawa R, Haneda M. Effects of Antioxidants in Diabetes-Induced Oxidative Stress in the Glomeruli of Diabetic Rats. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (8 Suppl 3):250-3.
17. Manning RD, Meng JNTS. Oxidative Stress and Antioxidant Treatment in Hypertension and the Associated Renal Damage. *Am J Nephrol* 2005; 25:311-17.
18. Amann K, Johannes T, Buzello M, Kuhlmann A, Gross ML, Adamczak M, Buzello M, Ritz E. Effect of antioxidant therapy with dl- α -tocopherol on cardiovascular structure in experimental renal failure. *Kidney Int* 2002; 62:877-84.
19. Deng G, Vaziri ND, Jabbari B, Ni Z, Yan XX. Increased Tyrosine Nitration of the Brain in Chronic Renal Insufficiency: Reversal by Antioxidant Therapy and Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12:1892-9.

20. Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol Med* 2003; 9:169-76.
21. Vaziri ND, Ni Z, Oveisi F, Liang K, Pandian R. Enhanced Nitric Oxide Inactivation and Protein Nitration by Reactive Oxygen Species in Renal Insufficiency. *Hypertension* 2002; 39:135-41.
22. Saran R, Novak JE, Desai A, Abdulhayoglu E, Warren JS, Bustami R, Handelman GJ, Barbato D, Weitzel W, D'Alecy LG, Rajagopalan S. Impact of vitamin E on plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) in chronic kidney disease (CKD): a pilot study. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:2415-20.
23. Kamgar M, Zaldivar F, Vaziri ND, Pahl MV. Antioxidant Therapy Does Not Ameliorate Oxidative Stress and Inflammation in Patients With End-Stage Renal Disease. *J Natl Med Assoc* 2009; 101:336-44.
24. Gordon CA, Himmelfarb J. Antioxidant Therapy in Uremia: Evidence-Based Medicine?. *Semin Dial* 2004; 17:327-32.
25. Nanayakkara PWB, van Guldener C, ter Wee PM, Peter G, Scheffer PG, van Ittersum FJ, Twisk JW, Teerlink T, van Dorp W, Stehouwer CDA. Effect of a Treatment Strategy Consisting of Pravastatin, Vitamin E, and Homocysteine Lowering on Carotid Intima-Media Thickness, Endothelial Function, and Renal Function in Patients With Mild to Moderate Chronic Kidney Disease. *Arch Intern Med* 2007; 167:1262-70.
26. MaCginley R, Westhuyzen J, Saltissi D, Morgan C, Healy H, Thirlwell GK, Disney APS. Evaluation of a Novel Vitamin E Coated Cellulosic Membrane Hollow Fiber Dialyzer. *ASAIO J* 2001; 47:66-73.

Tabelas e Figuras

Tabela I: Factores de risco cardiovasculares nos doentes com Doenças Renais Crónicas (DRC).

Factores de risco tradicionais	Factores de risco “não tradicionais”
Hipertensão Arterial	Taxa de filtração glomerular diminuída
Diabetes Mellitus	Proteinúria
Resistência à insulina	Actividade do Sistema Renina-
Tabaco	Angiotensina
Dislipidemia	Sobrecarga do volume extra-celular
Estilo de vida sedentário	Metabolismo de cálcio e fósforo anormal
Sexo masculino	Anemia
Hipertrofia ventricular esquerda	Desnutrição
	Inflamação
	Infecção
	Disfunção endotelial
	Calcificação vascular
	Factores trombogénicos
	Stress oxidativo
	Hiperhomocisteinemia
	Toxinas urémicas

Tabela II: Biomarcadores do *Stress Oxidativo*.

Biomoléculas	Produtos Finais de Oxidação
Lípidos	Malondialdeído
	LDL oxidadas
	Isoprostanos-F2
	Produtos finais de lipoxidação avançada
Carboidratos	Aldeídos reactivos
	Produtos finais de glicosilação
Proteínas/Aminoácidos	Proteínas carboniladas
	Grupos tiol oxidados
	Produtos de oxidação proteica avançada
	Cistina
	Homocistina
ADN	Iso-aspartato
	8-hidroxi guanina

(Adaptado de Himmelfarb J *et al.* e de Vaziri ND *et al.*).

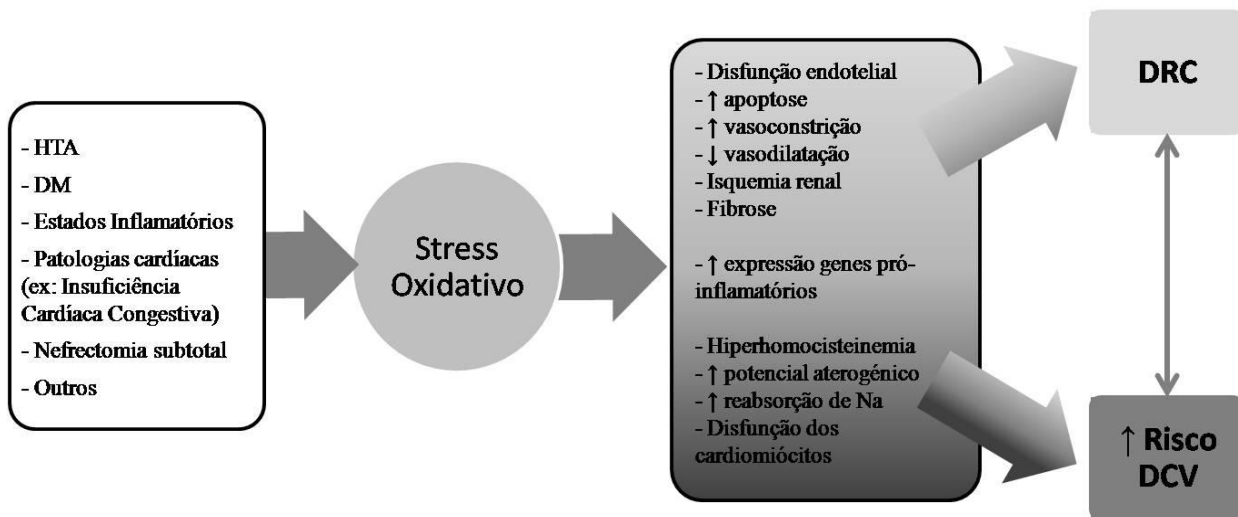


Figura I: Fisiopatologia do *Stress Oxidativo* no âmbito da Doença Renal Crónica. Diferentes condições patológicas podem originar *Stress Oxidativo*, e através deste, intervir na patogénese da Doença Renal Crónica. Esta, por sua vez, é também uma fonte importante de *Stress Oxidativo*, condicionando um aumento significativo do risco de ocorrência de doença cardiovascular nos doentes renais crónicos. *HTA* – Hipertensão arterial; *DM* – Diabetes Mellitus; *Na* – Sódio; *DRC* – Doença Renal Crónica; *DCV* – Doença Cardiovascular; ↑- aumento; ↓- diminuição.