

Artigo de Revisão

Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares*

Oxygen free radicals and pulmonary disease

DAHIR RAMOS DE ANDRADE JÚNIOR, RODRIGO BECCO DE SOUZA,
SÂNIA ALVES DOS SANTOS, DAHIR RAMOS DE ANDRADE

Os radicais livres de oxigênio são moléculas que apresentam elétrons não pareados em sua órbita externa, capazes de transformar outras moléculas com as quais se encontram, como proteínas, carboidratos, lípidos e o ácido desoxirribonucleico. Essas moléculas são geradas em situações clínicas onde microambientes de hipóxia são seguidos por microambientes de reoxigenação. Nesse grupo estão o choque hemodinâmico, a septicemia, a resposta inflamatória sistêmica, as hepatites fulminantes, o transplante de órgãos, e a insuficiência respiratória, entre outras condições. Neste trabalho discutimos os principais conceitos sobre os radicais livres de oxigênio: os principais tipos, sua formação e a forma como atuam sobre todas as estruturas celulares provocando lesão tecidual significativa. Os principais sistemas de defesa antioxidante existentes para combater o estresse oxidativo são comentados, com destaque para a glutatona, superóxido dismutase, catalase, glutatona peroxidase e N-acetilcisteína. A influência dos radicais livres de oxigênio sobre as principais doenças pulmonares também é discutida, com ênfase nos produtos do cigarro, doença pulmonar obstrutiva crônica, asma, apnéia obstrutiva do sono e síndrome do desconforto respiratório agudo.

Oxygen free radicals are molecules that present unpaired electrons in their outer orbit and can transform other molecules such as proteins, carbohydrates, lipids and deoxyribonucleic acid. Oxygen free radicals are produced in various clinical conditions in which hypoxic microenvironments are generated and reoxygenation follows. Such situations include clinical shock, septicemia, systemic inflammatory response, fulminant hepatitis, organ transplant and respiratory failure. In this review, we discuss the main concepts related to oxygen free radicals: the principal types and their formation, as well as the way in which they affect cellular structures and cause significant tissue damage. We present also the main antioxidants that guard against oxidative stress, including glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase, and N-acetylcysteine. The influence of oxygen free radicals on the principal pulmonary diseases are also discussed, with special emphasis given to oxygen free radicals in cigarette smoke, chronic obstructive pulmonary disease, asthma, sleep apnea syndrome and acute respiratory distress syndrome.

J Bras Pneumol 2005; 31(1): 60-8.

Descritores: Radicais livres de oxigênio. Substâncias antioxidantes. Estresse oxidativo. Pneumopatias.

Key words: Oxygen free radicals. Antioxidant substances. Oxidative stress. Lung diseases.

* Trabalho Realizado no Laboratório de Investigação Médica LIM-54, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. Suporte Financeiro - FAPESP
Endereço para correspondência: Dahir Ramos de Andrade Júnior, Av. Paes de Barros 701, ap. 101, Moóca, CEP 03115-020, São Paulo, SP.
Tel: 55-11 3066 7029. E-mail: dahira@uol.com.br
Recebido para publicação, em 30/5/2004. Aprovado, após revisão, em 19/8/2004.

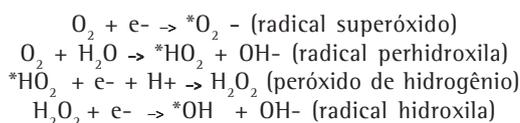
INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre os radicais livres de oxigênio (RLO) tem despertado grande interesse nas últimas décadas, pelo papel desempenhado por essas moléculas em várias situações clínicas da prática médica. As lesões teciduais pelos RLO estão presentes em várias condições, como choque hemodinâmico, septicemia, resposta inflamatória sistêmica, hepatites fulminantes, hepatite alcoólica, transplante de órgãos, insuficiência cardíaca e respiratória, entre outras. O ponto comum a todas essas situações clínicas é a existência de microambientes de hipóxia seguidos por reoxigenação, ou de isquemia seguidos por reperfusão, condições que propiciam a geração dos RLO.

Os RLO são átomos ou moléculas que contêm oxigênio e apresentam um elétron não pareado na sua órbita externa, e que são capazes de reagir com outras moléculas contra as quais colidem, retirando elétrons destas substâncias e modificando suas estruturas moleculares⁽¹⁾. A principal via de metabolismo do oxigênio no organismo envolve a sua completa redução à água, incorporando quatro elétrons ao final da cadeia respiratória. Se houver redução do oxigênio com um número menor de elétrons, ao longo da cadeia respiratória, haverá produção de radicais livres de oxigênio intermediários. Os principais RLO conhecidos são: *singlet* de O₂, hidroxila (*OH), superóxido (*O₂⁻) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂).

Geração de radicais livres de oxigênio

Como referido anteriormente, a completa redução do oxigênio molecular à água ocorre através da recepção de quatro elétrons ao final da cadeia respiratória. Contudo, se ocorrer redução do oxigênio por um número menor de elétrons, diferentes RLO podem ser formados, como ilustrado a seguir:

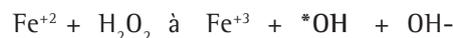


Radical hidroxila

O radical hidroxila (*OH) pode formar-se pela fissão homóloga da ligação O-O da molécula de H₂O₂. A simples mistura de H₂O₂ com sal de ferro (II)

também forma o radical *OH⁽²⁾. Esta reação em particular foi primeiramente observada por Fenton, em 1894. Há duas fontes principais do radical hidroxila nas células:

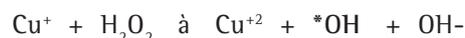
Decomposição do peróxido de hidrogênio pela reação de Fenton:



e interação do peróxido de hidrogênio com o radical superóxido através da reação de Haber-Weiss:



O radical hidroxila também pode ser formado quando uma forma reduzida do cobre entra em contato com o peróxido de hidrogênio, conforme observado na reação:



Este RLO é o mais reativo de todos, e o que apresenta meia vida mais curta^(1, 3). É importante destacar que quanto mais curta for a meia vida de um RLO, maior será a instabilidade de sua configuração eletrônica, e portanto, maior será a rapidez com que irá retirar elétrons de outras moléculas. Para o radical hidroxila, por exemplo, a capacidade de difusão antes de reagir é estimada ser de dois diâmetros moleculares apenas. Este RLO reage amplamente com aminoácidos, fosfolípides, ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico e ácidos orgânicos. Estas reações são principalmente de três tipos: subtração de átomo de hidrogênio (ex. metanol); adição de elementos a um anel aromático (ex. ADN); e transferência de elétrons (ex. cloro).

Radical superóxido

O radical superóxido é menos reativo que o radical hidroxila, e é formado a partir da redução do O₂ com um elétron. Em condições fisiológicas é gerado principalmente nas mitocôndrias, microsomas e peroxissomas⁽⁴⁾. Apresenta meia vida mais longa do que o hidroxila, sendo capaz de reagir com as moléculas por mais tempo. As reações desencadeadas pelo radical superóxido podem gerar os radicais hidroxila e peroxil. Em meio ácido, este RLO rapidamente forma peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Em meio neutro ou de alto pH, a dismutação do

superóxido é catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD)^(5, 6). O radical superóxido apresenta pequena reatividade molecular, e é duvidosa a sua capacidade de causar danos significativos às estruturas celulares. Este RLO pode reagir com o óxido nítrico para formar o peroxinitrito, capaz de oxidar e transferir nitrato para aminoácidos de várias proteínas pulmonares, causando a inibição dessas proteínas.

Peróxido de hidrogênio

É formado principalmente pelo radical superóxido protonado em meio com baixo pH. Embora o H_2O_2 não seja um verdadeiro RLO, pode reagir com metais redox-ativos como ferro e cobre, produzindo novos RLO. Além disso, tem meia vida longa e grande capacidade de se difundir através das membranas celulares hidrofóbicas (com difusão semelhante à da água), ampliando o efeito tóxico da reoxigenação.

Fontes biológicas de radicais livres

A maior via biológica de formação do RLO é o transporte de elétrons associado às membranas mitocondriais. Acredita-se que a ubiquinona-citocromo *b* é o mais provável sítio de formação de superóxido⁽⁷⁾. Grande parte do radical superóxido formado nas mitocôndrias é convertido em H_2O_2 pela superóxido dismutase mitocondrial, podendo haver saída da molécula de peróxido de hidrogênio para o citosol.

O microsoma e as membranas nucleares também contribuem para o sistema transportador de elétrons, através dos citocromos P-450 e B5, que podem produzir RLO. A mudança na posição da isoenzima do citocromo P-450 também pode influenciar no potencial de formação dos RLO, através de um processo ainda não esclarecido. Acredita-se, no entanto, que este fenômeno esteja relacionado com o balanceamento do citocromo P-450, através da soma de baixo e alto estados de energia do spin. A mudança para o estado de alta energia poderia resultar em crescimento da produção de superóxido e H_2O_2 , pelo aumento da redução do citocromo P-450⁽⁸⁾.

Os RLO são formados em ambientes de reoxigenação vindos da cadeia respiratória mitocondrial, bem como de fontes citoplasmáticas como a enzima xantina oxidase. A xantina oxidase catalisa a reação da hipoxantina com oxigênio, produzindo ácido úrico e o radical superóxido⁽⁹⁾. Para que esta reação ocorra é necessário que haja um tempo

mínimo de hipóxia, quando existirá a degradação completa do ATP em hipoxantina, bem como a conversão de xantina desidrogenase em xantina oxidase. Foi demonstrado em modelo de cultura primária de hepatócitos que o tempo mínimo de hipóxia prévio à reoxigenação, necessário para geração significativa dos RLO, situa-se em torno de duas horas⁽¹⁰⁾. As células também produzem RLO por outras fontes: enzimas oxidantes (aldeído oxidase, flavina desidrogenase, ciclooxigenase, NADPH oxidase e sistema citocromo P450 oxidase); auto-oxidação de pequenas moléculas (catecolaminas, flavinas e hidroquinonas); e sistema de carregadores de elétrons microsomais e das membranas nucleares, entre outras⁽¹⁾.

Os RLO são difíceis de se detectar nos ensaios experimentais pela sua meia vida extremamente curta. Para superar essa dificuldade técnica, muitos métodos têm surgido baseados na detecção de produtos estáveis formados pela ação dos RLO em substratos específicos. Os hidroperóxidos são os produtos estáveis formados durante a peroxidação de lipídios insaturados, como ácidos graxos e colesterol. Entre os métodos disponíveis para a detecção dos hidroperóxidos, destacam-se o *TBARS* e o método químico *FOX* (ferrous oxidation in xylenol orange). O método *TBARS* é um dos mais utilizados para estudos de peroxidação lipídica, e é baseado na reação do malondialdeído com o ácido tiobarbitúrico. É um método simples e sensível para mensuração da peroxidação lipídica, embora não seja muito específico⁽¹¹⁾. O método químico *FOX* destaca-se pela sua simplicidade, baixo custo, e várias vantagens técnicas⁽¹²⁾. O método *FOX* é baseado na oxidação do Fe^{+2} (sulfato ferroso amoniacal) a Fe^{+3} pelos hidroperóxidos em meio ácido. Na presença de hidroperóxido forma-se um complexo químico entre o íon ferro e a substância xilenol orange, produzindo cor azul-púrpura⁽¹³⁾. Este método mostra-se apropriado para estudos com amostras biológicas, como a medida de hidroperóxidos em membranas de eritrócitos, hepatócitos, ou outros tipos celulares.

Sistemas de defesa contra a agressão oxidativa

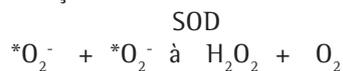
O conjunto das substâncias que neutralizam os efeitos danosos dos RLO constitui o sistema de defesa antioxidante. Enzimas como SOD, catalase e glutathione peroxidase não estão exclusivamente no citosol, mas também nas mitocôndrias, onde

grande parte dos RLO é produzida⁽¹⁴⁾.

Davies⁽¹⁵⁾ sugeriu, recentemente, uma classificação compreensiva do sistema de defesa antioxidante, que seria dividido em defesa primária e secundária. A defesa primária incluiria complexos antioxidantes, como vitamina E, A e C, glutathiona e ácido úrico, e enzimas antioxidantes varredoras de RLO, como a SOD, a catalase, e as peroxidases. A defesa secundária, por sua vez, seria composta por enzimas lipolíticas, fosfolipases, enzimas proteolíticas, enzimas reparadoras de ADN, endonucleases, exonucleases e ligases.

A glutathiona reduzida, um tripeptídeo gamaglutamyl-cisteína-glicina, é o tiol de baixo peso molecular mais abundante presente em virtualmente todos os sistemas celulares dos mamíferos. A versatilidade de suas propriedades químicas faz com que ele sirva como um redutor eficiente, através da interação com numerosos componentes oxidantes como $^*O_2^-$, H_2O_2 e *OH . A glutathiona reduzida está presente em altas concentrações no lavado broncoalveolar, conferindo proteção ao pulmão contra a injúria oxidativa. Sua importância é confirmada em estudos onde a sua depleção tem sido relacionada com risco maior de doença pulmonar⁽¹⁶⁾.

A dismutação do superóxido a H_2O_2 pela SOD é freqüentemente incluída na defesa antioxidante primária, porque esta enzima atua diretamente na prevenção do acúmulo do radical superóxido, através da reação:



A taxa de dismutação do superóxido induzida pela SOD é aproximadamente 10^4 vezes maior do que a dismutação química⁽¹⁷⁾. A superóxido dismutase é classificada em três tipos distintos dependendo do metal que contém: Cu/Zn-SOD (citossol), Mn-SOD (mitocôndria) e Fe-SOD. A SOD extracelular é abundante no tecido pulmonar, e protege o pulmão do estresse oxidativo. Entretanto, seu papel na asma ou em outras doenças das vias aéreas não está completamente esclarecido⁽¹⁸⁾. A SOD extracelular parece exercer um papel importante na redução da lesão pulmonar provocada por RLO em modelos animais, após a administração de bleomicina⁽¹⁹⁾.

A enzima catalase é considerada o maior componente da defesa antioxidante primária,

atuando na catálise da decomposição de H_2O_2 em água e dividindo esta função com a glutathiona peroxidase. Na presença de baixos níveis de H_2O_2 , os peróxidos orgânicos são eliminados preferencialmente pela glutathiona peroxidase, enquanto que em altas concentrações de H_2O_2 predomina a ação da catalase. A catalase pode ter um papel protetor contra alguns tumores, como o câncer de pulmão. Em um estudo com 24 pacientes portadores de câncer de pulmão, a atividade de catalase encontrava-se significativamente diminuída no tecido tumoral em comparação com o pulmão normal⁽²⁰⁾.

A N-Acetilcisteína é uma droga mucolítica, que possui propriedades antioxidantes por ser precursora da glutathiona reduzida. O uso dessa substância em 1219 pacientes que foram internados com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) descompensados reduziu em 30% o risco de re-internação de uma forma dose-dependente⁽²¹⁾. Uma meta-análise concluiu que o uso prolongado de N-Acetilcisteína diminuiu o número de exacerbações agudas em pacientes com bronquite crônica⁽²²⁾. O uso crônico de N-Acetilcisteína também foi benéfico em reduzir as exacerbações agudas em pacientes com DPOC moderada a grave⁽²³⁾. Em pacientes com DPOC o uso crônico de N-Acetilcisteína diminuiu os níveis exalados de H_2O_2 , sugerindo que o efeito benéfico dessa substância ocorra por este mecanismo⁽²⁴⁾.

Danos celulares causados por radicais livres de oxigênio

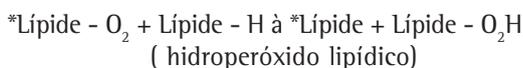
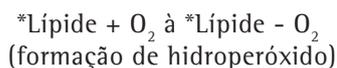
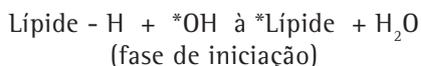
Reação de radicais livres com proteínas

A oxidação dos aminoácidos pelos RLO induz a mudanças físicas nas proteínas que eles compõem, que são distribuídas em três categorias: fragmentação, agregação e suscetibilidade à digestão proteolítica⁽²⁵⁾. O fenômeno da fragmentação devido aos RLO foi documentado com a albumina e o colágeno^(26, 27). As proteínas são seletivamente fragmentadas nos resíduos de prolina (radical hidroxila), bem como nos aminoácidos histidina e arginina (que estão em íntima associação com os metais de transição). O radical hidroxila pode ser o principal responsável pela agregação das proteínas, devido a sua capacidade de formar ligações cruzadas entre elas. A degradação

proteolítica é o resultado das alterações grosseiras da conformação protéica que podem ocorrer pela ação dos RLO.

Reação de radicais livres com lipídios

Estudos *in vitro* têm demonstrado que a peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados usualmente envolve três processos operacionalmente definidos: iniciação, propagação e terminação⁽²⁸⁾. A fase da iniciação ocorre com a formação de um conjugado dieno pela subtração de um átomo de hidrogênio pelo RLO com reatividade suficiente⁽²⁾. A fase de propagação da peroxidação lipídica decorre da interação do oxigênio molecular com o carbono, com formação do radical hidroperóxido, que subtrai hidrogênio de outras moléculas de lipídio, resultando no hidroperóxido lipídico⁽²⁾. Com a ajuda de metais catalíticos, a decomposição dos hidroperóxidos resulta na formação dos radicais alcoxil e peróxil que podem iniciar uma reação em cadeia, propagando a peroxidação lipídica. A seguinte seqüência de reações ilustra o fenômeno:



A peroxidação lipídica é a maior fonte de produtos citotóxicos, como os aldeídos, produzidos pela decomposição de hidroperóxidos⁽²⁹⁾. Os principais ácidos graxos que sofrem peroxidação lipídica na célula são o linoleico, o araquidônico, e o docosahexanóico, além de outros ácidos graxos poliinsaturados⁽¹⁾.

Peroxidação de carboidratos

Sagone Jr *et al.*⁽³⁰⁾ mostraram que a oxidação da glicose pode ser tanto um meio de varrer os radicais hidroperóxidos, quanto tornar-se fonte de RLO. Wolff *et al.*⁽³¹⁾ demonstraram que monossacarídeos simples rapidamente sofrem auto-oxidação sob condições fisiológicas, formando os complexos dicarbonil e H₂O₂. A glicose oxidada pode reagir com as proteínas, em um processo denominado

glicosilação ou glicação.

Modificação do genoma

Foram observados aproximadamente 20 tipos de alterações oxidativas do ADN pela ação dos RLO. O nível de dano estimado atinge de 8 a 83 resíduos/10⁶ de desoxiguanosina, aumentando com a idade, no fígado, rim e baço, mas não no cérebro⁽³²⁾. A lesão do ADN mitocondrial merece destaque, pois a mitocôndria é a fonte mais importante de RLO, e o seu ADN está exposto a níveis altos de radicais livres. Por este motivo, o ADN mitocondrial parece ser o alvo preferencial para muitos xenobióticos químicos carcinogênicos^(33, 34). A lesão do ADN induzida pelo radical hidroxila inclui alterações de bases e quebra da molécula. Dos cinco principais componentes do ADN, a timina e a citosina são as bases mais suscetíveis aos danos causados pelo ataque do radical hidroxila, seguidas pela adenina, guanina e o açúcar desoxirribose⁽³⁵⁾.

Doenças pulmonares e o estresse oxidativo

Fontes de radicais livres no pulmão

Muitas células do parênquima pulmonar são capazes de gerar RLO, como as células endoteliais, células alveolares tipo II, células *Clara*, células ciliadas da via aérea, e os macrófagos alveolares⁽³⁶⁾. Os sistemas geradores de RLO no pulmão são semelhantes aos de outros tecidos.

Relação dos radicais livres com danos pulmonares

Na maioria das vezes, as expressões isquemia/reperfusão e anóxia/reoxigenação são correspondentes. Entretanto, no tecido pulmonar há uma diferença entre elas, pois o oxigênio está presente nos alvéolos durante a isquemia pulmonar. Nesta condição, o oxigênio alveolar ajuda a manter o metabolismo aeróbico, retardando a hipóxia⁽³⁷⁾. Além disso, diferentemente de outros tecidos, os pulmões entram em contato com o oxigênio por duas vias: perfusão e ventilação. Hipóxia ou anóxia resultam em queda intensa dos níveis de ATP, com maior degradação desta molécula, levando ao aumento da produção de hipoxantina. Com a reintrodução do oxigênio no meio através da reperfusão e/ou ventilação, forma-se o radical superóxido pela ação da xantina oxidase sobre a hipoxantina. Este fenômeno pode ser bloqueado por inibidores da xantina oxidase, como o

alopurinol⁽³⁸⁾. A ausência de fluxo sanguíneo no pulmão pode causar peroxidação lipídica e danos oxidantes devidos à presença de oxigênio⁽³⁹⁾. Esse tipo de injúria não está relacionado à depleção de ATP e, portanto, não pode ser bloqueado por inibidores da xantina oxidase⁽³⁸⁾. O endotélio parece ser uma das fontes predominantes de oxidantes na isquemia pulmonar não hipóxica, pela ativação da NADPH-oxidase, do fator NF-kB e pela síntese de óxido nítrico dependente de cálcio-calmodulina^(40, 41). O óxido nítrico, um gás diatômico simples, gera as espécies mais significativas de nitrogênio reativas dos sistemas biológicos, o peroxinitrito e o ácido peroxinitroso.

Outras células com atividade alta da NADPH-oxidase, como macrófagos e neutrófilos, também podem contribuir para os danos oxidantes no pulmão.

Produtos do cigarro

Vários experimentos comprovam a importância do cigarro na lesão pulmonar por RLO. Em comparação com indivíduos não fumantes, os fumantes crônicos apresentam níveis maiores de produtos da peroxidação lipídica no plasma, medidos pelo método TBA-malondialdeído⁽⁴²⁾. Além disso, observa-se uma redução dos antioxidantes nos espaços aéreos distais dos fumantes, como ocorre com a vitamina E do lavado bronco-alveolar, quando comparados com não fumantes⁽⁴²⁾. Por causa da propriedade lipofílica do tocoferol, a vitamina E é a maior varredora de radicais livres no meio lipofílico, e no meio intracelular está associada com membranas ricas em lipídios, como a do retículo endoplasmático. Há evidências, também, de que os leucócitos de fumantes liberam mais RLO⁽⁴³⁾.

A fumaça do cigarro induz níveis altos de RLO na via aérea humana⁽²⁰⁾, podendo induzir a inflamação e maior liberação de proteases, pela maior produção de RLO. Este fenômeno é contrabalanceado por antiproteases que tentam impedir a lesão do parênquima pulmonar. A produção inadequada de antiproteases pode não neutralizar as proteases ativadas pelo fumo, o que leva ao desenvolvimento da doença pulmonar obstrutiva crônica⁽⁴⁴⁾. Um estudo interessante, em modelo animal, mostrou que a exposição de ratos à fumaça do cigarro provocou depleção de vitamina A, fato associado com o desenvolvimento de enfisema. O benzopireno, constituinte da fumaça do cigarro, seria o responsável pela depleção da

vitamina A⁽⁴⁵⁾. Os carotenóides protegem lipídios contra a peroxidação por radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio, principalmente o *singlet* de oxigênio.

Doença pulmonar obstrutiva crônica

A geração de radicais superóxido por neutrófilos de pacientes com DPOC e exacerbação aguda parece ser significativamente maior do que em indivíduos saudáveis da mesma idade. Os níveis plasmáticos de produtos da peroxidação lipídica, medidos pela técnica *TBARS*, são maiores em pacientes com DPOC do que em indivíduos normais, e são maiores naqueles pacientes que apresentam exacerbação aguda da doença⁽⁴⁴⁾.

Os níveis de isoprostano-F2 (isômero de prostaglandinas formadas pela peroxidação lipídica) são significativamente maiores na urina de pacientes com DPOC (média de 84 pmol/mmol de creatinina) do que em pacientes controle (média de 35,5 pmol/mmol de creatinina)⁽⁴⁶⁾. Esse resultado é mais um indício da participação do estresse oxidativo na fisiopatologia da DPOC.

Em pacientes com exacerbações agudas de DPOC encontramos níveis séricos aumentados de malondialdeído (produto da peroxidação lipídica), que retornam ao normal após o tratamento⁽⁴⁷⁾. Neste sentido, foram encontrados níveis de malondialdeído significativamente maiores no soro de pacientes com DPOC em comparação com indivíduos controle, com ou sem exacerbações agudas⁽⁴⁷⁾. Além disso, os níveis de glutatona dos eritrócitos e a vitamina C sérica são menores em pacientes com exacerbação aguda da DPOC em relação aos controles⁽⁴⁸⁾. A vitamina C (ácido ascórbico) é hidrofílica e reage com $*O_2^-$, H_2O_2 e vários lipídios hidroperóxidos. Além disso, pode restaurar as propriedades antioxidantes da vitamina E oxidada.

Asma

A asma é uma doença caracterizada por inflamação crônica das vias aéreas. A produção de RLO por células inflamatórias ativadas provoca muitas alterações fisiopatológicas associadas com a asma. As atividades de enzimas antioxidantes e sua relação com a asma ainda não estão bem esclarecidas. Em um estudo realizado com asmáticos leves, a atividade da SOD foi significativamente menor nestes pacientes em

relação aos controles⁽⁴⁹⁾. Em outro estudo, os níveis de glutathiona peroxidase extracelular foram maiores na via aérea de pacientes asmáticos, em comparação com os controles⁽⁵⁰⁾.

Os níveis plasmáticos de produtos da peroxidação lipídica, medidos pela técnica TBA-malondialdeído, foram significativamente maiores em pacientes asmáticos crônicos, quando comparados com indivíduos normais⁽⁴¹⁾. Um aumento na carga oxidante pode resultar da liberação de intermediários reativos de oxigênio⁽⁴¹⁾, bem como de óxido nítrico nesta doença. O ânion superóxido e o óxido nítrico reagem rapidamente para formar peroxinitrito (ONOO⁻), que tem forte capacidade oxidante.

Apnéia obstrutiva do sono

Há várias evidências de que ocorre aumento da liberação de RLO por neutrófilos circulantes na apnéia obstrutiva do sono; os RLO podem reduzir o óxido nítrico, vasodilatador derivado do endotélio (pacientes com apnéia obstrutiva do sono têm nível sérico baixo de derivados do óxido nítrico)⁽⁵¹⁾; há aumento da peroxidação lipídica⁽⁵²⁾; os RLO produzem aumento da agregação plaquetária, fenômeno que também ocorre na apnéia obstrutiva do sono; os RLO podem aumentar a expressão de vários genes endoteliais, como aqueles responsáveis pela síntese de moléculas de adesão, endotelina e o fator de crescimento endotelial vascular. Neste sentido, pacientes com apnéia obstrutiva do sono apresentam expressão aumentada de VCAM, ICAM e selectina E⁽⁵³⁾, bem como maior indução do fator de crescimento endotelial vascular⁽⁵⁴⁾.

Síndrome do desconforto respiratório agudo

A síndrome do desconforto respiratório agudo é uma doença caracterizada pela inflamação difusa do parênquima pulmonar. Os pacientes com essa síndrome sofrem estresse oxidativo vindo principalmente de duas fontes: neutrófilos ativados e altos níveis de oxigênio empregados na terapêutica ventilatória. O envolvimento de mediadores inflamatórios na síndrome do desconforto respiratório agudo tem sido objeto de intensa investigação, e a lesão tecidual mediada por substâncias oxidantes parece ser importante na patogênese da doença. Em resposta a vários

estímulos inflamatórios, células do endotélio pulmonar, células alveolares, células epiteliais da via aérea, assim como macrófagos alveolares ativados, produzem óxido nítrico e superóxido, que reagem formando peroxinitrito (ONOO⁻). Este radical pode oxidar aminoácidos-chave em várias proteínas do pulmão, como por exemplo a proteína A surfactante, inibindo suas funções⁽⁵⁵⁾. Muitos estudos experimentais sugerem que, tanto os radicais reativos de nitrogênio, quanto os RLO, estão envolvidos na patogênese da síndrome do desconforto respiratório agudo⁽⁵⁶⁾. Outras evidências indicam que o sistema antioxidante é defeituoso em pacientes com essa síndrome. Em um estudo, os níveis plasmáticos de alfa-tocoferol, vitamina C, beta-caroteno e selênio estavam reduzidos nos pacientes com a doença⁽⁵⁷⁾.

CONCLUSÕES

Os RLO são moléculas que contém oxigênio e apresentam elétrons não pareados em sua órbita externa. Essa característica torna os RLO uma fonte de problemas para as células e tecidos, pois eles são capazes de reagir e modificar as estruturas moleculares de lípidos, carboidratos, proteínas e do ADN. O próprio metabolismo celular pode gerar os RLO através da mitocôndria (principal geradora de RLO) e de fontes citoplasmáticas, mas a taxa de produção aumenta muito se os tecidos forem expostos a microambientes de hipóxia seguidos por reoxigenação (ou isquemia seguidos por reperfusão). Há um tempo mínimo de hipóxia/isquemia prévio à reoxigenação/reperfusão necessário para que se formem RLO em grande quantidade. Como os pulmões entram em contato com o oxigênio por duas vias diferentes, perfusão e ventilação, tornam-se alvos freqüentes dos RLO e muitas doenças pulmonares parecem ser influenciadas por essas moléculas. Há evidências da influência dos RLO nos danos teciduais das seguintes condições: tabagismo crônico, doença pulmonar obstrutiva crônica, asma, apnéia obstrutiva do sono e síndrome do desconforto respiratório agudo, entre outras. Esse conhecimento tem evoluído juntamente com o estudo sobre as substâncias antioxidantes capazes de neutralizar os efeitos dos RLO. No futuro, o uso de substâncias neutralizantes dos RLO pode fazer parte do arsenal terapêutico no combate às principais doenças pulmonares.

REFERÊNCIAS

1. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev.* 1994;74:139-62.
2. Guttridge MC, Halliwell B. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J.* 1984;219:1-14.
3. Del Maestro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand.* 1980;492:153-68.
4. Rosser BG, Gores G J. Liver cell necrosis: cellular mechanisms and clinical implications. *Gastroenterology.* 1995;108:252-75.
5. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science.* 1978;201:875-80.
6. Gregory EM, Fridovich I. Oxygen toxicity and the superoxide dismutase. *J Bacteriol.* 1973;114:1193-7.
7. Tyler DD. Polarographic assay and intracellular distribution of superoxide dismutase in rat liver. *Biochem J.* 1975;147:493-504.
8. Morehouse LA, Aust SD. Microsomal oxygen radical generation-relationship to the initiation of lipid peroxidation. In: Chow CK, editor. *Cellular antioxidant defense mechanisms.* Boca Raton: CRC; 1988. p.1-9.
9. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med.* 1985;312:159-63.
10. Andrade Júnior, DR. Estudo de hepatócitos de rato em cultura primária submetidos à hipóxia e reoxigenação: ação dos citoprotetores prostaglandina E1, superóxido dismutase, verapamil, alopurinol, clorpromazina e efeito citotóxico da actinomicina D [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1996.
11. Kappus H. Lipid peroxidation: mechanisms, analysis, enzymology and biological relevance. In: Sies H, editor. *Oxidative stress.* London: Academic Press; 1985. p.273-310.
12. Kennedy TP, Rav NV, Hopkings C, Pennington L, Tolly E, Hoidal JR. Role of reactive oxygen species in reperfusion injury of the rabbit lung. *J Clin Invest.* 1989;83:1326-35.
13. Nourooz-Zadeh J. Ferrous oxidation in presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxides in plasma. *Methods Enzymol.* 1999;300:58-62.
14. Ji LL, Stratman FW, Lardy HA. Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise. *Arch Biochem Biophys.* 1988;263:150-60.
15. Davies KJ. A. Proteolytic systems as secondary antioxidant defenses. In: Chow CK, editor. *Cellular antioxidant defenses mechanisms.* Boca Raton, FL: CRC; 1988. p.25-67.
16. Al-Turk WA, Sohs SJ, El-Rashidy FH, Othoman S, Shaheen O. Changes in glutathione, glutathione reductase and glutathione-S-transferase as a function of cell concentration and age. *Pharmacology.* 1987;34:1-8.
17. Fridovich I. Superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem.* 1975;44:147-59.
18. Deby C, Deby-Dupont G. Mechanism of intervention of uric acid metabolism in PG biosynthesis. *Agents Actions.* 1981;11:651-2.
19. Bowler RP, Nicks M, Warnick K, Crapo JD. Role of extracellular superoxide dismutase in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002;282:L719-L726.
20. Chung-Man HJ, Zheng S, Comhair SA, Farver C, Erzurum SC. Differential expression of manganese superoxide dismutase and catalase in lung cancer. *Cancer Res.* 2001;61:8578-85.
21. Gerrits CM, Herings RM, Leufkens HG, Lammers JW. N-acetylcysteine reduces the risk of re-hospitalization among patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J.* 2003;21:795-8.
22. Grandjean EM, Berthet P, Ruffmann R, Leuenberger P. Efficacy of oral long-term N-acetylcysteine in chronic bronchopulmonary disease: a meta-analysis of published double-blind, placebo-controlled clinical trials. *Clin Ther.* 2000;22:209-21.
23. Pela R, Calcagni AM, Subiaco S, Isidori P, Tubaldi A, Sanguinetti CM. N-acetylcysteine reduces the exacerbation rate in patients with moderate to severe COPD. *Respiration.* 1999;66:495-500.
24. Kasielski M, Nowak D. Long-term administration of N-acetylcysteine decreases hydrogen peroxide exhalation in subjects with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med.* 2001;95:448-56.
25. Griffiths HR, Unsworth J, Blake DR, Lunec J. Free radicals in chemistry, pathology and medicine. London: Richelieu; 1988. p.439-54.
26. Marx G, Chevion M. Site-specific modification of albumin by free radicals. Reaction with copper (II) and ascorbate. *Biochem J.* 1986;236:397-400.
27. Wolff SP, Dean ST. Fragmentation of protein by free radicals and its effect on their susceptibility to enzymic hydrolysis. *Biochem J.* 1986;234:399-403.
28. Girotti AW. Mechanisms of lipid peroxidation. *Free Radical Biol Med.* 1985;1:87-95.
29. Esterbauer H, Jurgens G, Quehenberger O, Koller E. Autoxidation of human low density lipoprotein loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *J Lipid Res.* 1987;28:495-509.
30. Sagone Jr AL, Greewald EH, Kraut J, Bianchine J, Singh D. Glucose: role as free radical scavenger in biological systems. *J Lab Clin Med.* 1983;101:97-104.
31. Wolff SP, Crabbe MJC, Thornalley PJ. The autoxidation of glyceraldehydes and other simple monosaccharides. *Exp Basel.* 1984;40:244-6.
32. Fraga CG, Shigenaga MK, Park JW, Degan P, Ames B. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990;87:4533-7.
33. Backer JM, Weinstein IB. Mitochondrial DNA is a major cellular target for dihydrodiol-epoxide derivative of benzo(a)pyrene. *Science.* 1980;209:297-9.
34. Niranjan BG, Bhat NK, Avadhani NG. Preferential attack of mitochondrial DNA by aflatoxin B1 during hepatocarcinogenesis. *Science.* 1982;215:73-5.
35. Saul RL, Gee D, Ames BN. Free radicals, DNA damage, and aging. In: Warnes HR, Butler RN, Sprott RL, Schneider EL, editors. *Modern biological theories of aging.* New York: Raven; 1987. p.113-29.
36. Al Mehdi AB, Schuman H, Fisher AB. Intracellular generation of reactive oxygen species during non hypoxic lung ischemia. *Am J Physiol.* 1997;273:L294-L300.

37. Date H, Matsumura A, Manchester JK, Obo H., Lima O, Cooper J, et al. Evaluation of lung metabolism during successful twenty-four-hour canine lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993;105:480-91.
38. Zhov G, Al Mehdi AB, Fischer AB. Anoxia - reoxygenation versus ischemia in isolated rat lungs. *Am J Physiol.* 1997;273:L1112-L7.
39. Fisher AB, Dodia C, Tan ZT, Ayene I, Eckenhoff RG. Oxygen - dependent lipid peroxidation during lung ischemia. *J Clin Invest.* 1991;88:674-9.
40. Al-Mehdi AB, Zhao G, Dodia C, Tozawa K, Costa K, Muzykantov V, et al. Endothelial NADPH oxidase as the source of oxidants in lungs exposed to ischemia or high K⁺. *Circ Res.* 1998;83:730-7.
41. Al-Mehdi AB, Zhao G, Fisher AB. ATP - independent membrane depolarization with ischemia in the oxygen ventilated isolated rat lung. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1998;18:653-61.
42. Rahman J, Morrison D, Donaldson K, Machell W. Systemic oxydative stress in asthma, COPD, and smokers. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;154:1055-60.
43. Ludwig PW, Hoidal JR. Alterations in leukocyte oxidative metabolism in cigarette smokers. *Am Rev Respir Dis.* 1982;126:977-80.
44. Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 2000;343:269-80.
45. Li T, Molteni A, Latkovich P, Castellani W, Baybutt RC. Vitamin A depletion induced by cigarette smoke is associated with the development of emphysema in rats. *J Nutr.* 2003;133:2629-34.
46. Pratico D, Basili S, Vieri M, Cordova C, Violi F, Fitzgerald GA. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with an increase in urinary levels of isoprostam Fz α III, an index of oxidant stress. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158:1709-14.
47. Sahin U, Unlu M, Ozguner F, Sutcu R, Akkaya A, Delibas N. Lipid peroxidation and glutathione peroxidase activity in chronic obstructive pulmonary disease exacerbation: prognostic value of malondialdehyde. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2001;12:59-68.
48. Calikoglu M, Unlu A, Tamer L, Ercan B, Bugdayci R, Atik U. The levels of serum vitamin C, malonyldialdehyde and erythrocyte reduced glutathione in chronic obstructive pulmonary disease and in healthy smokers. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40:1028-31.
49. Tekin D, Sin BA, Mungan D, Misirligil Z, Yavuzer S. The antioxidative defense in asthma. *J Asthma.* 2000;37:59-63.
50. Comhair SA, Bhatena PR, Farver C, Thunnissen FB, Erzurum SC. Extracellular glutathione peroxidase induction in asthmatic lungs: evidence for redox regulation of expression in human airway epithelial cells. *FASEB J.* 2001;15:70-8.
51. Schulz R, Schmidt D, Blum A, Lopes-Ribeiro X, Lucke C, Mayer K et al. Decreased plasma levels of nitric oxide derivatives in obstructive sleep apnoea: response to CPAP therapy. *Thorax.* 2000;55:1046-51.
52. Barcelo A, Miralles C, Barbe F, Vila M, Pons S, Agustí AG. Abnormal lipid peroxidation in patients with sleep apnoea. *Eur Respir J.* 2000;16:644-7.
53. Ohga E, Nagase T, Tomita T, Teramoto S, Matsuse T, Katayama H, Ouchi Y. Increased levels of circulating ICAM-1, VCAM-1, and L-Selectin in obstructive apnea syndrome. *J Appl Physiol.* 1999;87:10-4.
54. Schulz R, Hummel C, Heinemann S, Seeger W, Grimminger F. Serum levels of vascular endothelial growth factor are elevated in patients with obstructive sleep apnea and severe nighttime hypoxia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:67-70.
55. Lang JD, McArdle PJ, O'Reilly PJ, Matalon S. Oxidant-antioxidant balance in acute lung injury. *Chest.* 2002;122:314S-320S.
56. Fink MP. Role of reactive oxygen and nitrogen species in acute respiratory distress syndrome. *Curr Opin Crit Care.* 2002;8:6-11.
57. Metnitz PG, Bartens C, Fischer M, Fridrich P, Steltzer H, Druml W. Antioxidant status in patients with acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med.* 1999;25:180-5.