

## Alterações no perfil redox de portadores de esclerose múltipla

Alteration in redox profile in multiple sclerosis patients

Alteraciones en el perfil redox en pacientes con esclerosis múltiple

Recebido: 29/03/2021 | Revisado: 09/04/2021 | Aceito: 19/04/2021 | Publicado: 03/05/2021

### **Jéssica dos Santos Goulart**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6915-9288>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: [jessica\\_goulart2@hotmail.com](mailto:jessica_goulart2@hotmail.com)

### **Aime Cunha**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6404-4705>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: [aimecunha4@gmail.com](mailto:aimecunha4@gmail.com)

### **Thayna Oliveira Dias**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7907-6694>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: [thayolli.to@gmail.com](mailto:thayolli.to@gmail.com)

### **Caroline Alegransi**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6632-6543>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: [calegransi@gmail.com](mailto:calegransi@gmail.com)

### **Gabrielly Machado Ribeiro**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3886-814X>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: [gaby-ribeiro-@hotmail.com](mailto:gaby-ribeiro-@hotmail.com)

### **Érika Emanuele Costa Rodrigues**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2067-4400>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: [erika..rodrigues@hotmial.com](mailto:erika..rodrigues@hotmial.com)

### **Mariana Migliorini Parisi**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2298-7809>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: [mparisi@unicruz.edu.br](mailto:mparisi@unicruz.edu.br)

### **Vaneza Cauduro Peranzoni**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2415-6504>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: [vperazoni@unicruz.edu.br](mailto:vperazoni@unicruz.edu.br)

### **Roberta Cattaneo**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9258-8005>  
Universidade de Cruz Alta, Brasil  
E-mail: [rcattaneo@unicruz.edu.br](mailto:rcattaneo@unicruz.edu.br)

### **Resumo**

A esclerose múltipla é uma doença neurodegenerativa, crônica e autoimune que atinge o sistema nervoso central, caracterizada pela desmielinização de neurônios impedindo que os impulsos nervosos cheguem até as áreas pretendidas. O estresse oxidativo trata-se de um desequilíbrio entre o sistema de defesa antioxidante e as espécies reativas presentes no organismo. Ambos encontram-se relacionados de alguma maneira que todavia não é elucidada. Visto isto, objetivou-se avaliar o perfil redox de portadores de esclerose múltipla realizando uma comparação com indivíduos saudáveis. Este estudo foi aceito pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cruz Alta sob parecer de nº: 3.531.405. Participaram do estudo 10 portadores de esclerose múltipla, grupo (EM) e 8 indivíduos saudáveis, grupo controle (CT) ambos os grupos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Para análises foram coletadas amostras sanguíneas, que foram processadas e foi retirado o plasma. As análises foram realizadas conforme técnicas descritas na literatura. Os resultados foram analisados por teste de Mann-whitney considerando estatisticamente significativo  $p < 0,05$ . Os resultados encontrados foram: GSH aumentada no grupo EM, Catalase sem diferença estatística entre os grupos, GST aumentada no grupo CT e lipoperoxidação e carbonilação proteica aumentadas em EM. Conclui-se que os portadores de esclerose múltipla possuem um perfil redox alterado em comparação aos indivíduos saudáveis.

**Palavras-chave:** Estresse oxidativo; Doenças neurodegenerativas; Sistema antioxidante.

### **Abstract**

Multiple sclerosis is a neurodegenerative, chronic and autoimmune disease that affects the central nervous system,

characterized by the demyelination of neurons preventing nerve impulses from reaching the intended areas. Oxidative stress is an imbalance between the antioxidant defense system and the reactive species present in the body. Both are related in some way that is not yet elucidated. In view of this, the objective was to evaluate the redox profile of patients with multiple sclerosis by making a comparison with healthy individuals. This study was accepted by the Research Ethics Committee of the University of Cruz Alta under the number: 3,531,405. Participated in the study 10 patients with multiple sclerosis, group (EM) and 8 healthy individuals, control group (CT) both groups signed the Free and Informed Consent Form. For analysis, blood samples were collected, which were processed and the plasma was removed. The analyzes were performed according to techniques described in the literature. The results were analyzed using the Mann-Whitney test, considering statistically significant  $p < 0.05$ . The results found were: increased GSH in the EM group, Catalase without statistical difference between the groups, increased GST in the CT group and increased lipoperoxidation and protein carbonylation in EM. It is concluded that patients with multiple sclerosis have an altered redox profile compared to healthy individuals.

**Keywords:** Oxidative stress; Neurodegenerative diseases; Antioxidant System.

### Resumen

La esclerosis múltiple es una enfermedad neurodegenerativa, crónica y autoinmune que afecta al sistema nervioso central, caracterizada por la desmielinización de neuronas que impiden que los impulsos nerviosos lleguen a las áreas previstas. El estrés oxidativo es un desequilibrio entre el sistema de defensa antioxidante y las especies reactivas presentes en el cuerpo. Ambos están relacionados de alguna manera que aún no se ha dilucidado. Ante esto, el objetivo fue evaluar el perfil redox de los pacientes con esclerosis múltiple comparándolo con individuos sanos. Este estudio fue aceptado por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad de Cruz Alta bajo el número: 3.531.405. Participaron del estudio 10 pacientes con esclerosis múltiple, grupo (EM) y 8 individuos sanos, grupo control (TC), ambos grupos firmaron el Formulario de Consentimiento Libre e Informado. Para el análisis se recolectaron muestras de sangre, que se procesaron y se extrajo el plasma. Los análisis se realizaron de acuerdo con las técnicas descritas en la literatura. Los resultados se analizaron mediante la prueba de Mann-Whitney, considerando estadísticamente significativa una  $p < 0,05$ . Los resultados encontrados fueron: aumento de GSH en el grupo EM, catalasa sin diferencia estadística entre los grupos, aumento de GST en el grupo CT y aumento de la lipoperoxidación y carbonilación de proteínas en el grupo EM. Se concluye que los pacientes con esclerosis múltiple tienen un perfil redox alterado en comparación con los individuos sanos.

**Palabras clave:** Estrés oxidativo; Enfermedades neurodegenerativas; Sistema antioxidante.

## 1. Introdução

A esclerose múltipla (EM) é uma doença que atinge o Sistema Nervoso Central (SNC), crônica, progressiva, degenerativa e autoimune, que se caracteriza por uma infiltração de células inflamatórias no SNC, causando lesões à mielina, interrompendo a transmissão de impulsos nervosos ou gerando falha na propagação de potenciais de ação axonal, o que resulta em erros na comunicação entre cérebro e corpo. A EM tem caráter heterogêneo e pode evoluir para quadros de surto-remissão resultando em formas clínicas distintas, conforme a localização e sequência temporal das lesões neuronais (Menezes *et al.* 2017).

A EM afeta milhões de pacientes a nível mundial e dados epidemiológicos relatam que no Brasil a taxa de incidência da doença é de 15 casos/100.000 habitantes nas regiões sul e sudeste do país. As causas da aparição da EM não são totalmente esclarecidas, porém, sugere-se determinada predisposição genética, associada a um fator ambiental desconhecido presentes em um mesmo indivíduo. Alguns dos sintomas que caracterizam a doença são: perda progressiva de habilidades motoras, visão e equilíbrio. Inicialmente, sabe-se que o cérebro tem capacidade de regenerar a mielina, porém, conforme a EM progride, esse processo de reparo inato fica sobrecarregado (Menezes *et al.* 2017; Hubler *et al.* 2018).

As Espécies Reativas (ERs) de oxigênio ou hidrogênio, são radicais livres que possuem um elétron desemparelhado e centrado nos átomos de oxigênio. A oxidação é um processo fundamental no metabolismo humano, isso faz com que os radicais livres sejam produzidos naturalmente e operem em processos de produção de energia, fagocitose, crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas, porém, a geração excessiva ou baixa velocidade na eliminação das ERs gera o estresse oxidativo (Barbosa *et al.* 2014).

O Estresse Oxidativo (EO) é o desequilíbrio entre antioxidantes e ERs no organismo, o que gera danos, de origem oxidativos ou genotóxicos. Esse processo conduz a oxidação de biomoléculas, fazendo com que percam suas funções

biológicas, gerando desequilíbrio homeostático e potencial dano contra células e tecidos, em lipídios, proteínas e ácido desoxirribonucleico (DNA). Esse processo resulta de fatores como: aumento da geração das ERs de oxigênio ou de nitrogênio, inibição de enzimas antioxidantes, depleção de antioxidantes não enzimáticos ou incapacidade de reparação de dano oxidativo. A cronicidade dessa desordem pode vir a ser o processo etiológico de doenças crônicas não transmissíveis, como, por exemplo, transtornos neurodegenerativos (Barbosa *et al.* 2010; Ahmadinejad *et al.* 2017).

Para combater o EO, os organismos possuem um sistema de defesa antioxidante, dividido em enzimático e não-enzimático, capazes de reduzir e/ou inibir os danos causados pelas ERs (Barbosa *et al.* 2010). Contudo, para dosar os danos causados pela desordem provocada pelo EO, pode-se utilizar marcadores oxidativos e genotóxicos, bem como, a dosagem de enzimas que compõe o sistema antioxidante (Santi *et al.* 2011). Estudos sobre as possíveis causas da EM sugerem que o acúmulo de ERs pode contribuir com mecanismos subjacentes às lesões desenvolvidas na doença, porém, pesquisas que correlacionam EM e EO ainda são escassas (Van Horssen *et al.* 2008).

Desta forma, considerando a escassez de estudos relacionados ao EO na EM e tendo em vista o impacto desta a nível mundial, e ainda, não possuir cura e tampouco ter causas plenamente esclarecidas, justifica-se a realização do presente estudo, a fim de elucidar o perfil de seus portadores quanto as alterações causadas no organismo causadas pelo EO. Objetivou-se então avaliar o perfil redox de portadores de EM, comparando com indivíduos saudáveis.

## **2. Metodologia**

Este estudo pode ser caracterizado como uma pesquisa exploratória, laboratorial e de caráter quantitativo. Participaram do mesmo 18 voluntários selecionados pela secretária municipal de saúde do município de Cruz Alta, RS, Brasil, seguindo todas as conformidades dos aspectos éticos e de biossegurança. Análises laboratoriais foram realizadas e após análises estatísticas.

### **2.1 Aspectos Éticos**

Este trabalho faz parte de um projeto maior intitulado “Efeito da equoterapia como coadjuvante nas doenças neurodegenerativas” que foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ), foi aceito sob o nº de parecer: 3.531.405 e foi executado de acordo com as normas da resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Os pacientes portadores de EM, assim como, os que não apresentam nenhum diagnóstico de doença crônica que comporam o grupo controle, foram convidados a participar do estudo, após o aceite, receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), documento autoexplicativo e redigido em linguagem clara, porém que não excluiu a explicação também oral dos objetivos, metodologias e relevância da pesquisa, que foram feitos igualmente a todos os voluntários. Também assegura os aspectos bioéticos e a ciência do fato de que os voluntários poderiam desistir da participação a qualquer momento e que não haveria nenhum tipo de compensação financeira. O documento foi entregue em duas vias, que foram obrigatoriamente assinadas para a participação, uma cópia ficou com o pesquisador e a outra com o participante.

### **2.2 Seleção e Coleta de Amostras**

#### **2.2.1 Seleção de Voluntários para a Pesquisa**

A seleção de voluntários ocorreu através da Secretaria Municipal de Saúde, equipe das Estratégias de Saúde da Família e do Núcleo de Apoio à Saúde da Família do município de Cruz Alta – RS. Participaram da pesquisa 10 portadores de EM, com idades entre 18 a 60 anos e 8 pessoas saudáveis na mesma faixa etária, que não faziam uso de medicamentos e

tampouco portavam alguma doença crônica no momento da coleta, os últimos compuseram o grupo controle. Os critérios de exclusão incluíram indivíduos que não se enquadravam nesses perfis.

### **2.2.2 Coleta De Amostra Sanguínea**

As coletas foram realizadas no laboratório de Análises Clínicas (LAC) da UNICRUZ. No momento da coleta os pacientes primeiramente assinaram o TCLE, logo após, foi coletado amostra de sangue em tubos contendo ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA), cada participante recebeu um número, o qual foi etiquetado em seus respectivos tubos. As amostras foram transportadas de forma refrigerada até o Laboratório de Estresse Oxidativo e Plantas Medicinais (LamOX) da Universidade, onde o sangue total foi centrifugado a 3000rpm durante dez minutos para a posterior retirada do plasma, que foi utilizado para realização das análises.

## **2.3 Determinações do Sistema Antioxidante**

### **2.3.1 Determinação da Atividade da Glutathiona Reduzida (GSH)**

A GSH foi determinada de acordo com a técnica descrita por Elman *et al.* (1959). Em que foi utilizado o ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (DTNB) como principal reagente, as amostras foram lidas a 412nm em espectrofotômetro e os resultados expressos em  $\mu\text{mol GSH/mL}$ .

### **2.3.2 Determinação da Atividade da Enzima Catalase (CAT)**

A atividade da CAT foi mensurada de acordo com a técnica descrita por Hadwan (2018). Para isso foram utilizados reagente contendo cobalto II, TFK, água e o plasma dos pacientes. A reação ocorreu com a formação de um complexo carbonato- cobato II. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro a 240nm e os resultados expressos em U/mL.

### **2.3.3 Determinação da Atividade da Glutathiona -S- Transferase (GST)**

A GST foi dosada de acordo com a técnica descrita por Habig *et al.* (1974). Utilizando o 2,4-Dinitrochlorobenzeno (CDNB) como principal reagente. As leituras das absorbâncias ocorreram em 340nm. E os resultados das atividades da GST foram expressos em  $\mu\text{mol GS-DNB/min/mg}$  proteína.

## **2.4 Determinações de Danos Oxidativos**

### **2.4.1 Determinação dos Níveis de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)**

Os níveis de TBARS foram determinados conforme Jentzsch *et al.* (1996), que dosa a formação do malondialdeído (MDA) nas amostras. Ácido Fosfórico, água e o ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,1ml/mL como reagentes. As absorbâncias foram lidas em 532nm em espectrofotômetro e os resultados expressos em nmol MDA/mL.

### **2.4.2 Determinação das Proteínas Carboniladas (PCS)**

A técnica que foi realizada para determinação de PCs foi a descrita por Levine (1990). Que utiliza ácido tricloroacético (TCA) 10%, ácido clorídrico 2N, 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH) a 10Mm e dodecil sulfato de sódio (SDS) 3% (m/v), como reagentes. As leituras foram realizadas por espectrofotometria a 370nm e os resultados expressos por nmol/carbonil/mg de proteínas totais.

### **2.4.3 Determinação dos Níveis das Proteínas Totais (PTS)**

As proteínas totais foram dosadas por kit comercial da marca Labtest<sup>®</sup>, de acordo com as instruções do fabricante.

### 2.5 Análises Estatísticas

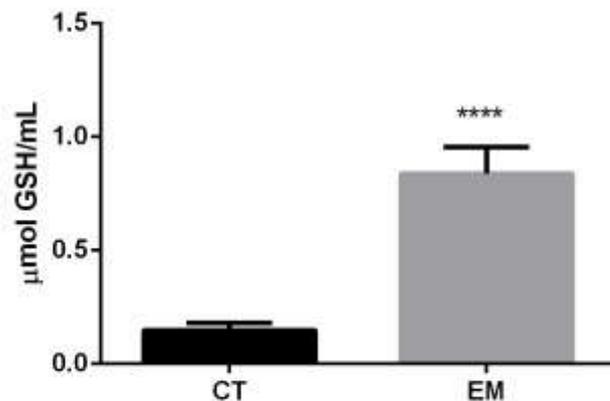
Os resultados das análises foram tabulados e representados por médias  $\pm$  desvio padrão, a análise de distribuição de dados foi avaliada pelos testes D'Agostino- Pearson, Shapiro-Wilk e KS. Posteriormente foi realizado o teste Mann-whitney, onde o grupo de pacientes com EM foi comparado com o grupo controle, considerando estatisticamente significativo, quando  $p < 0,05$ .

### 3. Resultados

Foram realizadas análises em 18 indivíduos voluntários, sendo que, 10 destes eram pacientes portadores de esclerose múltipla, que comporam o grupo (EM) e 8 indivíduos saudáveis, que comporam o grupo controle (CT), pareados por sexo e idade. As análises foram submetidas a testes estatísticos, considerando significativos quando  $p < 0,05$ .

Quanto as determinações do sistema antioxidante, quando a atividade da GSH foi comparada entre os dois grupos, houve um aumento da substância no grupo EM, em relação ao CT, que foi significativamente estatístico, com um  $p=0,0001$  (Figura 1).

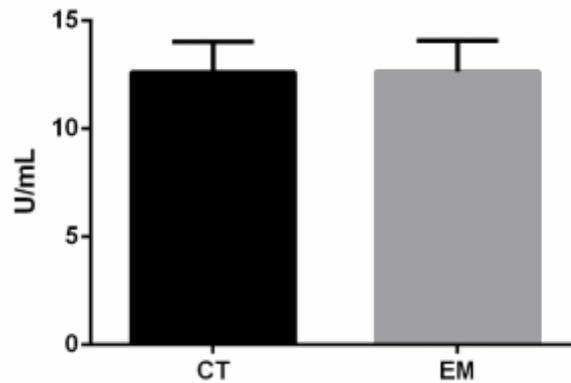
**Figura 1.** Atividade da Glutationa Reduzida ( $\mu\text{mol GSH/mL}$ ); em plasma de indivíduos saudáveis (CT) comparados com portadores de esclerose múltipla (EM).



\* significam resultados significativamente distintos, considerando  $P < 0,05$ , \*\*\*  $p = 0,0001$ .  
Fonte: Autores (2020).

Os resultados da atividade da enzima Catalase quando os dois grupos foram comparados não foram considerados estatisticamente significativos, considerando um  $p < 0,05$  (Figura 2).

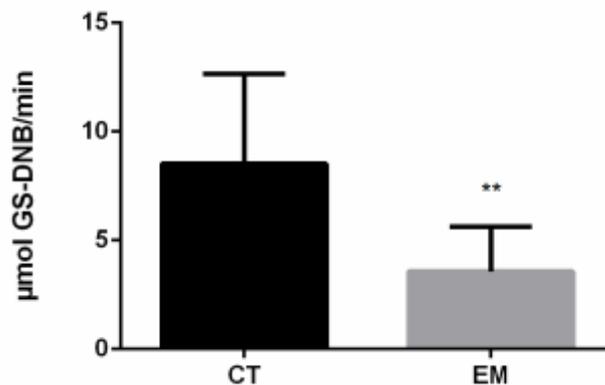
**Figura 2.** Atividade da enzima Catalase (U/mL); em plasma de indivíduos saudáveis (CT) comparados com portadores de esclerose múltipla (EM).



Considerando resultado estatisticamente significativo quando  $P < 0,05$ .  
Fonte: Elaborado pelos autores (2020).

Quando dosada a atividade da enzima Glutathiona-S-Transferase houve uma diminuição no grupo EM, quando comparado com o grupo CT, que foi significativamente estatístico, com um  $p = 0,003$  (Figura 3).

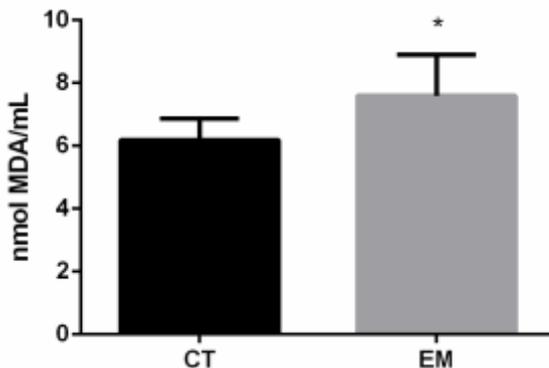
**Figura 3.** Atividade da enzima Glutathiona-S-Transferase ( $\mu\text{mol GS-DNB}/\text{min}$ ); em plasma de indivíduos saudáveis (CT) comparados com portadores de esclerose múltipla (EM).



\* significam resultados significativamente distintos, considerando  $P < 0,05$ , \*\*\*  $p = 0,003$ .  
Fonte: Elaborado pelos autores (2020).

Quanto as determinações de danos oxidativos, quando os níveis de TBARS foram dosados, foi verificado um aumento estatisticamente significativo nos níveis de MDA no grupo EM, quando comparado com o grupo CT, gerando um  $p = 0,0226$  (Figura 4).

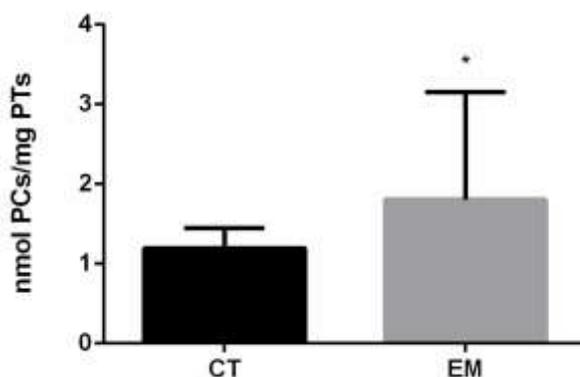
**Figura 4.** Níveis de peroxidação lipídica (nmol MDA/mL); em plasma de indivíduos saudáveis (CT) comparados com portadores de esclerose múltipla (EM).



\* significam resultados significativamente distintos, considerando  $P < 0,05$ , \*  $p = 0,0226$ .  
Fonte: Elaborado pelos autores (2020).

Nas análises de carbonilação proteica também foi visualizado um aumento nestes danos no grupo EM em relação ao grupo CT, com um  $p = 0,0245$  (Figura 5).

**Figura 5.** Níveis de carbonilação proteica (nmol PCs/mg PTs); em plasma de indivíduos saudáveis (CT) comparada com portadores de esclerose múltipla (EM).



\* significam resultados significativamente distintos, considerando  $P < 0,05$ , \*  $p = 0,0245$ .  
Fonte: Elaborado pelos autores (2020).

#### 4. Discussão

Os resultados encontrados neste estudo indicam um aumento da atividade da GSH no grupo estudado de pacientes portadores de esclerose múltipla, bem como, diminuição da atividade da enzima GST e diferença não significativa na enzima Catalase. Os resultados também indicam um aumento nos marcadores de danos oxidativos nos portadores de EM, com níveis de TBARS e Carbonilação Proteica aumentados neste grupo. Os achados sugerem que o grupo EM apresenta um perfil oxidativo alterado em comparação ao grupo de saudáveis com que foi comparado.

A ordem dos fatores entre a geração de estresse oxidativo e o surgimento de doenças que atingem o sistema nervoso central ainda é fortemente questionada pela ciência, porém, devido ao fato de que os neurônios são altamente dependentes da

função das mitocôndrias, para geração de energia e regulação do processo de apoptose, alguns estudos delinearão o papel desta organela na produção de espécies reativas de oxigênio em áreas sinápticas e espaços intracelulares, gerando, conseqüentemente estresse oxidativo (ahmadinejad *et al.* 2017).

A relação mais específica entre o EO e a EM também tem sido amplamente discutida, alguns estudos indicam que o estresse oxidativo tem papel na patogênese da doença, pois, as espécies reativas geradas em excesso por macrófagos tem sido identificados como mediadores da desmielinização de mielina nos neurônios, que causa a esclerose múltipla, além disto, o sistema defesa antioxidante do SNC estaria enfraquecido nos pacientes portadores de EM e este fato torna o grupo mais vulnerável aos efeitos destas espécies, aumentando o risco de danos (Miller *et al.* 2009).

Para inibição ou redução dos danos causados pelas ERs, os organismos possuem um sistema de defesa antioxidante, que age através de diferentes mecanismos, como: sistema de prevenção, sistemas varredores ou sistema de reparo, esse sistema divide-se em enzimático e não enzimático. O enzimático é composto pelas seguintes enzimas: Superóxido Dismutase (SOD), CAT e pelas glutatônicas, Glutathione Peroxidase (GPx) e Glutathione Redutase (GR), enquanto o sistema não enzimático é composto por: GSH, ácido úrico, ácido ascórbico, o  $\alpha$ -tocoferol e o  $\beta$ -caroteno (Santi *et al.* 2011).

A Glutathione Reduzida é o melhor exemplo de antioxidante endógeno não enzimático que pode ser dosado para elucidação de perfil redox, a glutathione existe no organismo nessa forma ou de forma oxidada (GSSG), atuando direta ou indiretamente em diversos processos biológicos, dentre eles, síntese de proteínas, metabolismo e proteção celular. A GSH possui baixo peso molecular e não possui atividade catalítica, podendo agir no sequestro de ERs, ou como cofator para enzimas, como a GST (Cotinguiba *et al.* 2013).

No estudo a atividade da GSH (Figura 1) demonstrou aumento nos pacientes portadores de EM. O aumento na produção de antioxidantes neste grupo pode ser consequência da ativação de um mecanismo de defesa adaptativo que busca redução dos danos celulares induzidos pelas espécies reativas, pois estes marcadores podem ser regulados positivamente em presença das lesões desmielinizantes da esclerose múltipla quando comparados com pacientes que possuem substância cerebral branca de aparência normal (Horssen *et al.* 2008).

A CAT é uma enzima que age integrada com a GPx impedindo o acúmulo de peróxido de hidrogênio, a ação destas enzimas é de extrema importância, visto que esta espécie reativa, através da reação de Fenton e Haber-Weiss, culmina na geração do radical OH $\cdot$ , contra o qual não existe sistema enzimático de defesa. Este radical é indicado como o de maior potencial reativo, por ser extremamente instável e o mais propício a produzir danos oxidativos, pois, é o principal iniciador da peroxidação lipídica, age sob proteínas e ataca o DNA, podendo gerar mutações (Barbosa *et al.* 2010). A CAT desempenha seu papel transformando o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, por meio da reação  $2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$ , evitando danos que o excesso do composto possa vir a causar (Santos, 2018)

A atividade da enzima Catalase (Figura 2) neste estudo não apresentou diferença estatisticamente significativa quando os dois grupos foram comparados. Poucos estudos analisaram a atividade desta enzima em amostras sanguíneas de pacientes portadores de esclerose múltipla e dentre os que fizeram há ambigüidade entre os resultados encontrados, em um estudo que analisou a atividade da enzima em linfócitos e granulócitos, comparando com grupo saudável, foi encontrada uma diminuição da atividade enzimática em nos pacientes EM nos granulócitos e nenhuma diferença entre os grupos em linfócitos, já em outro estudo que analisou a enzima em eritrócitos lisados, tampouco foi encontrado diferença entre o grupo EM e pacientes saudáveis, outro estudo que analisou a atividade em plasma encontrou um aumento na atividade da Catalase nos pacientes EM (Ibitoye *et al.* 2016).

A GST é uma enzima que pertence a uma família multifuncional envolvida no processo de detoxificação celular, também atuando na correção de efeitos deletérios de compostos xenobióticos, essa enzima atua catalisando a conjugação da GSH, tornando compostos menos tóxicos e mais solúveis em água, facilitando a degradação e excreção (Palodeto *et al.* 2010).

No presente estudo também foi encontrado como resultado uma diminuição da atividade da enzima GST (Figura 3) nos pacientes portadores de EM. Quando estudado o estresse oxidativo periférico em plasma de portadores de esclerose múltipla, foi observado um aumento nos níveis de glutatona total, GSH e outros marcadores do grupo em EM, porém, em contra partida foi encontrado uma diminuição da atividade da enzima GST no grupo EM em comparação com o grupo saudável, isto sugere que o sistema de defesa antioxidante destes pacientes se encontra alterado, além disto, dados revelam que os mesmos têm uma redução na capacidade antioxidante total (Tasset *et al.* 2012).

Quando foram dosados os danos oxidativos neste estudo, foi encontrado aumento de danos estatisticamente significativos em lipídios (Figura 4) e em proteínas (Figura 5) nos portadores de esclerose múltipla. Segundo estudo, o dano oxidativo severo em lesões de esclerose múltipla analisadas em tecido cerebral adquiridos através de autópsia coincidem com a expressão aumentada do sistema de defesa antioxidante quando comparados com tecido cerebral sem presença de doença neurodegenerativa, estes danos também foram encontrados em lipídios e proteínas, notavelmente no mesmo estudo a expressão de antioxidantes endógenos se encontravam aumentadas no mesmo grupo. Para análise foram utilizados astrócitos e macrófagos carregados de mielina, pois estes são os principais alvos da doença, e os resultados encontrados sugerem que estas células são capazes de se proteger produzindo antioxidantes (HORSSSEN *et al.* 2008).

Ao atingir ácidos graxos insaturados, as ERs iniciam o processo de peroxidação lipídica que é propagado por radicais peroxilas. Essa reação transforma-se em uma reação em cadeia, entre os seus produtos, tem-se em maior quantidade o malonildialdeído (MDA), que pode ser utilizado como biomarcador e é altamente tóxico ao organismo. A reação de peroxidação lipídica divide-se em três etapas: iniciação, propagação e terminação. (França *et al.* 2013; Oliveira *et al.* 2016).

A peroxidação lipídica é um ponto final comum quando ocorre produção desenfreada de ER's levando a ruptura das membranas celulares e lesão celular, que também se demonstra aumentada no grupo EM em relação a saudáveis. Outro dano que também é um ponto final comum é a carbonilação proteica que pode acarretar em perda da função das proteínas ou agregação resultando em desregulação da homeostase celular, sendo as proteínas modificadas alvos de degradação. Esse dano proteico faz parte da oxidação causada pelas lesões na EM e estudos em plasma e soro tem demonstrado aumento da carbonilação nesse grupo (Ibitoye *et al.* 2016).

Na carbonilação proteica há a ação das ERs sob proteínas, gerando o que se chama de Proteínas Carboniladas (PCs), que são um excelente biomarcador (Salinas *et al.* 2016). Em geral, qualquer fator que acarreta o EO pode gerar PCs, as proteínas possuem grupos com diferentes graus de oxidação, podendo ser específicas ou inespecíficas e também classificadas em reversíveis e irreversíveis. A oxidação proteica reversível consiste em ativação ou desativação de proteínas funcionais no sistema redox, já a oxidação proteica irreversível consiste em quatro mecanismos: carbonilação, ruptura de peptídeos, nitração e formação de enlaces proteína-proteína. A oxidação não reversível a nível celular pode fazer com que as proteínas percam suas funções e como consequência gerem um desequilíbrio no metabolismo celular (Irazusta *et al.* 2008).

No que se refere aos danos oxidativos, há uma infinidade de estudos que analisaram e constataram um grau elevado de peroxidação lipídica e carbonilação proteica em EM com relação a grupos saudáveis e ainda assim apresentando antioxidantes elevados quando estão em um curso favorável da doença, incluindo antioxidantes que podem moldar o sistema imunológico periférico, porém, achados também relatam maior produção de ER's a nível celular por macrófagos e linfócitos, o que pode sugerir o papel destas espécies no componente periférico da patogênese das lesões da EM (Ohl *et al.* 2015).

Por fim, as espécies reativas de oxigênio que desencadeiam o estresse oxidativo, quando geradas em excesso principalmente pelos macrófagos, foram apontadas como mediadores da desmielinização e do dano axonal na esclerose múltipla, associando o estresse diretamente com o curso da doença, o aumento em alguns antioxidantes nesse grupo levanta a hipótese de que a primeira resposta ao surgimento inicial de danos oxidativos em tentativa de proteção ocorre anteriormente a resposta inflamatória e no momento em que essa tentativa deixa de ser suficiente ocorre recaída aumentando a produção de

danos (Escribano *et al.* 2016).

Neste contexto, os resultados do presente estudo sugerem que a relação dos biomarcadores antioxidantes e oxidantes com a EM é existente e diversas hipóteses podem ser levantadas sobre a mesma corroborando talvez para um futuro melhor entendimento a respeito das causas que desencadeiam a doença, bem como, sua fisiopatologia e quem sabe possa vir a auxiliar no desenvolvimento de melhores tratamentos para a esclerose múltipla.

## 5. Conclusão

Considerando a esclerose múltipla uma doença neurodegenerativa que afeta milhões de pessoas mundialmente com tão poucos esclarecimentos sob sua origem e sua relação com o estresse oxidativo, os achados neste estudo podem ser considerados importantes devido a uma melhor elucidação do perfil redox destes pacientes. Foi possível concluir com base nos resultados encontrados apoiados pelos achados na literatura que os portadores da doença apresentam um perfil redox alterado quando comparados com indivíduos saudáveis e devido ao aumento sempre presente nos danos oxidativos, pode-se sugerir também que estes pacientes estão sofrendo com danos que podem ser altamente tóxicos ao organismo.

Este trabalho abre portas para próximos estudos com um número amostral maior de pacientes portadores de EM e também de outras análises e experimentos que podem ser realizados na busca por uma melhor elucidação do perfil redox deste grupo, como por exemplo, estudos de danos genotóxicos e citogenéticos.

## Referências

- Ahmadinejad, F., Moller, S. G., Hashemzadeh-Chaleshtori, M., Bidkhorji, G & Jami, M. S. (2017) Molecular Mechanisms behind Free Radical Scavengers Function against Oxidative Stress. *Antioxidants*, 6(3), 51.
- Almeida, L. H. R. B., Oliveira, F. T. M., Silva, M. K. M., Rocha, F. C., Nascimento, F. C. L & Silva, G. R. F. (2011) Conhecimento dos profissionais de saúde sobre esclerose múltipla. *Health Sciences*, 33(2), 133-8.
- Balamurugan, M., Santharaman, P & Rajesh, S. (2018). Recent trends in electrochemical biosensors of superoxide dismutases. *Biosensors and Bioelectronics*, 116, 89–99.
- Barbosa, M. R., Silva, M. M. A., Willadino, L., Ulisses, C & Camara, T. R. (2014). Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*, 44(3), 453-60.
- Barbosa, K. B. F., Costa, N. M. B., Alfenas, R. C. G., Paula, S.O., Minim, V. P. R & Bressan, J. (2010). Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. *Revista de Nutrição*, 2(4), 629-43.
- Bortolotto, J. W. (2015). *Avaliação do sistema purinérgico em modelos de déficit cognitivo e doenças neurodegenerativas em peixe-zebra (Danio rerio)*. 89 f. Tese (Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
- Correia, J. R. M. (2016). *Relação entre infecções do sistema nervoso central e as doenças neurodegenerativas*. 98 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) – Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Almada, Portugal.
- Cotinguiba, G. G., Silva, J. R. N., Azevedo, R. R. S., Rocha, T. J. M & Santos, A. F. (2013). Método de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde*, 15(3), 1-7.
- Crovador, L. F., Oliveira-Cardoso, E. A., Mastropietro, A. P & Santos, M. A. (2013). Qualidade de vida relacionada à saúde de pacientes com esclerose múltipla antes do transplante de células-tronco hematopoéticas. *Psicologia: Reflexão e Crítica*, 26(1), 58-6.
- Escribano, B. M., Medina-Fernández, F. J., Aguilar-Luque, M., Agüera, E., Feijoo, M., Maceira, F. G., Lillo, R., Reyes, P.V., Giraldo, A., Luque, E., Colín, R.D & Túnez, I. (2016). Lipopolysaccharide Binding Protein and Oxidative Stress in a Multiple Sclerosis Model. *Neurotherapeutics*, 14, 199-211.
- França, B. K., Alves, M. R. M., Souto, F. M., S., Tiziane, L., Boaventura, R. F., Guimarães, A & Alves Jr, A. (2013). Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. *GE Jornal Português de Gastroenterologia*, 20(5), 199-206.
- Horsen, J. V., Schreiber, G., Drexhage, J., Hazes, T., Dijkstra, C. D., Valk, P. V & Vries, H. E. (2008). Severe oxidative damage in multiple sclerosis lesions coincides with enhanced antioxidant enzyme expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(12), 1729-37.
- Hubler, Z., Allimunthu, D., Bederman, I., Elitt, M. S., Madhavan, M., Allan, K. C., Shick, H. E., Garrison, E., Karl, M. T., Factor, D. C., Nervin, Z. S., Sax, J. L. S., Thompson, M. A., Fedorov, Y., Jin, J., Wilson, W. K., Giera, M., Bracher, F., Miller, R. H., Tesar, P. L & Adams, D. J. (2018). Accumulation of 8,9-unsaturated sterols drives oligodendrocyte formation and remyelination. *Nature*, 560(7718), 372–76.
- Ibitoye, R., Kemp, K., Rice, C., Hares, K., Scolding, N & Wilkins, A. (2016). Oxidative stress-related biomarkers in multiple sclerosis: a review. *Biomark Med*, 10(8), 889-902.

- Irazusta, V., Cermeño, A. M., Ros, J & Tamarit, J. (2008) Estrategias proteômicas para el análisis de grupos carbonilo como marcadores de daño oxidativo em proteínas. *Proteómica*, n 2.
- Larussa, G. T. (2015). A influencia do sistema endocanabinoide na fisiopatologia da esclerose múltipla. *J Health Sci Inst*, 33(3), 274-9.
- Medeiros, G. S. (2017). *Avaliação de marcadores de estresse oxidativo e de índices de dano ao DNA em amostras de sangue periférico de pacientes em crise cirrótica atendidos na emergência do hospital universitário da Universidade Federal de Santa Catarina*. 83 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Farmácia) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.
- Menezes, K. M., Algarve, T. D., Flôres, F. S., Cruz, I. B. M., Copetti, F & Silveira, A .F. (2017). DNA damage and postural balance in multiple sclerosis patients. *Fisioterapia em Movimento*, 30(1), p. 85–91.
- Miller, E., Mrowicka, M., Zolynski, K & Kedziora, J. (2009). Oxidative stress in multiple sclerosis. *Pol Merkur Lekarski*, 27, 499-502.
- Ohk, K., Tenbrock, K & Kipp, M. (2016). Oxidative stress in multiple sclerosis: Central and peripheral mode of action. *Exp Neurol*, 277, 58-67.
- Oliveira, B. D. A., Rodrigues, A. C., Cardoso, B. M. I., Ramos, A. L. C. C., Bertoldi, M. C., Taylor, J. G., Cunha, L. R & Pinto, U. M. (2016). Antioxidant, antimicrobial and anti-quorum sensing activities of *Rubus rosaefolius* phenolic extract. *Industrial Crops and Products*, 84, 59-66.
- Palodetto, B., Postal, M., Grignoli, C. R. E., Sartorato, E. L & Oliveira, C. A. (2010). Influencia dos polimorfismos da glutiona s-transferase na ototoxicidade dos aminoglicosídeos. *Braz. J. otorhinolaryngol*, 76(3).
- Salinas, J. G., Ortiz, L. G., Terán, P. M., Rodríguez, S. H., García, S. R & Ramos, N. R. N. (2016). Determinación de proteínas carboniladas y enzima carbonil reductasa em mujeres mexicanas con câncer de mama: estudio piloto. *Gac Med Mex*, 152(1), 13-8.
- Santi, A. (2011) Biomarcadores de estresse oxidativo e atividade da acetilcolinesterase em eritrócitos humanos expostos ao clomazone (*in vitro*). *Interdisciplinary Toxicology*, 4(3), 149-53.
- Santos, A. F., Machado, R. R., Neto, J. M. M & Menezes, M. G. V. (2018). Efeito antioxidante da diosmina: revisão integrativa. *ABCS Health Sciences*, 43(3).
- Sivandzade, F., Prasad, S., Bhalariao, A & Cucullo, L. (2019). NRF2 and NF-κB interplay in cerebrovascular and neurodegenerative disorders: Molecular mechanisms and possible therapeutic approaches. *Redox Biology*, 21, 101-59.
- Tasset, I., Aguera, E., López, F. S., Feijóo, M., Giraldo, A. I., Cruz, A. H., Gascón, F & Túnez, I. (2012). Peripheral oxidative stress in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Clinical Biochemistry*, 45(6), 440-44.
- Tian, Y., Wang, W., Xu, L., Li, H., Wei, Y., Wu, Q & Jia, J. (2019). Activation of Nrf2/ARE pathway alleviates the cognitive deficits in PS1V97L-Tg mouse model of Alzheimer's disease through modulation of oxidative stress. *Journal of Neuroscience Research*, 97(4), 492–505.
- Van Horsen, J., Schreibelt, G., Drexhage, J., Hazes, T., Dijkstra, C. D., Valk, P. V & Vries, H. E. (2008). Severe oxidative damage in multiple sclerosis lesions coincides with enhanced antioxidant enzyme expression. *Free Radical Biol Med*, 45, 1729-37.
- Vieira, A. R. M. (2018). Um novo conceito para o tratamento de Esclerose Múltipla. *Revista Brasileira de Ciências da Vida*, [S.l.], 6. ISSN 2525-359X.