

Análise do status redox de pacientes usuários de ácido acetilsalicílico

Analysis of the redox state of patients acetilsalicylic acid users

Análisis del estado redox de pacientes que utilizan ácido acetilsalicílico

Recebido: 08/03/2022 | Revisado: 15/03/2022 | Aceito: 24/03/2022 | Publicado: 30/03/2022

Suély Bastos da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1462-5637>
Universidade Alto Vale do Rio do Peixe, Brasil
E-mail: suelysilva2704@hotmail.com

Jéssica Camile Favarin

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7825-0590>
Universidade Alto Vale do Rio do Peixe, Brasil
E-mail: je_favarin@hotmail.com

Vilmair Zancanaro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7579-041X>
Universidade Alto Vale do Rio do Peixe, Brasil
E-mail: vilmair@uniarp.edu.br

Emyr Hiago Bellaver

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7169-1000>
Universidade Alto Vale do Rio do Peixe, Brasil
E-mail: hi.agobellaver@hotmail.com

Resumo

Um dos maiores problemas globais de saúde é constituído pelas doenças crônicas não transmissíveis ao exemplo das doenças cardíacas e coronarianas, diabetes, hipertensão, dentre outras, gerando um elevado número de mortes prematuras e ainda alterações fisiológicas relacionadas ao metabolismo oxidativo gerando aumentos excessivos na produção de espécies reativas de oxigênio. Objetivou-se neste trabalho analisar o status redox de pacientes com patologias cardíacas usuários de ácido acetilsalicílico (AAS) frente a grupos de indivíduos hígidos e voluntários nas mesmas condições patológicas, porém, não usuários da medicação, através das análises antioxidantes dos níveis de GSH, TBARS e capacidade antioxidante total no soro dos voluntários (TEAC). O estudo contou com voluntários entre 19 e 96 anos e usuários de AAS a mais de um ano. As análises dos níveis de GSH evidenciaram uma diminuição significativa em voluntários com desordens coronarianas. Na análise dos níveis de TBARS e TEAC observou-se um aumento da atividade da lipoperoxidação lipídica e diminuição da TEAC no grupo cardiopata não usuário da medicação. As observações realizadas frente à fragilização do sistema antioxidante não podem ser diretamente relacionadas ao uso do fármaco em questão, uma vez que fatores de ordens biológicas e ambientais devem ser levados em consideração. Sendo assim, estudos em condições controladas deverão ser realizados para determinar a relação direta entre uso do fármaco e atividade oxidante.

Palavras-chave: Status redox; Ácido acetilsalicílico; AINES; Antioxidante.

Abstract

One of the major global health problems is chronic non-transmissible diseases such as heart and coronary diseases, diabetes, hypertension, among others, leading to a high number of premature deaths and physiological changes related to oxidative metabolism, causing excessive increases in the production of oxygen reactive species. The objective of this study was to analyze the redox status of patients with acetylsalicylic acid (AAS) users with healthy and volunteer subjects in the same pathological conditions, but not users of the medication, through the antioxidant analyzes of the levels of GSH, TBARS and total serum antioxidant capacity (TEAC). The study included volunteers aged 19-96 and AAS users for more than one year. Analyzes of GSH levels showed a significant decrease in volunteers with coronary disorders. In the analysis of TBARS and TEAC levels, there was an increase in the lipid peroxidation activity and a decrease in the TEAC in the non-users of the medication. The observations made regarding the embrittlement of the antioxidant system can not be directly related to the use of the drug in question, since biological and environmental factors must be taken into account, for such studies under controlled conditions should be carried out to determine the direct relation between drug use and oxidant activity.

Keywords: Redox status; Acetylsalicylic acid; NSAIDs; Antioxidant.

Resumen

Uno de los mayores problemas de salud a nivel mundial lo constituyen las enfermedades crónicas no transmisibles como son las enfermedades cardíacas y coronarias, diabetes, hipertensión, entre otras,

generando un alto número de muertes prematuras y alteraciones fisiológicas relacionadas con el metabolismo oxidativo, generando aumentos desmesurados en la producción de especies reactivas al oxígeno. El objetivo de este estudio fue analizar el estado redox de pacientes con patologías cardíacas que utilizan ácido acetilsalicílico (AAS) frente a grupos de individuos sanos y voluntarios en las mismas condiciones patológicas, pero no usuarios del medicamento, mediante el análisis de los niveles antioxidantes de GSH, TBARS y capacidad antioxidante total en suero de voluntarios (TEAC). El estudio contó con voluntarios de entre 19 y 96 años y usuarios de AAS durante más de un año. Los análisis de los niveles de GSH mostraron una disminución significativa en los voluntarios con trastornos coronarios. En el análisis de los niveles de TBARS y TEAC, se observó un aumento de la actividad de peroxidación lipídica y una disminución de TEAC en el grupo con cardiopatía que no usó el medicamento. Las observaciones realizadas sobre el debilitamiento del sistema antioxidante no pueden relacionarse directamente con el uso del fármaco en cuestión, ya que se deben tener en cuenta factores biológicos y ambientales. Por lo tanto, se deben realizar estudios bajo condiciones controladas para determinar la relación directa entre el uso de drogas y la actividad oxidante.

Palabras clave: Estado redox; Ácido acetilsalicílico; AINE; Antioxidante.

1. Introdução

Doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) constituem ainda neste século o maior problema global de saúde, gerando um elevado número de mortes prematuras, perda da qualidade de vida, limitações e incapacidades, além de serem responsáveis por impactos econômicos, familiares e para a sociedade em geral (Malta et al. 2014).

Dentre os mecanismos relacionados à patogênese das DCNT, têm-se destaque as alterações relacionadas ao metabolismo oxidativo, indicando que seu desequilíbrio está relacionado com o surgimento de algumas patologias, como doenças coronarianas e cardiovasculares, por exemplo (Gottlieb et al. 2011). Inúmeros fatores de risco estão presentes no desenvolvimento de doenças coronarianas e estão relacionados de forma direta com a disfunção endotelial. A presença de fatores de risco, tais qual, o fumo, obesidade, *diabetes mellitus*, hipertensão, aumento dos níveis de colesterol e histórico de doença arterial crônica induzem a diminuição da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) e aumentam a produção de radicais livres (De Pinho et al. 2010).

Em condições fisiológicas normais, a formação de radicais livres no organismo proporciona energia (ATP), porém, em disfunções fisiológicas, o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) causa danos oxidativos em células e tecidos, podendo levar a perda de funções devido ao estresse (Silva & Jasiulionis, 2014). Para contrabalancear uma superprodução de radicais livres oriundos de vários processos, dentre eles a fosforilação oxidativa, os tecidos encontram-se munidos com uma rede endógena de antioxidantes como a glutatona e a catalase (Hiragi, 2011; He et al. 2017). A glutatona exerce atividade antioxidante protegendo contra lesões endoteliais, detoxificação de agentes químicos e eliminação dos produtos da lipoperoxidação dos lipídios sendo que a intensidade desta pode ser evidenciada através da quantificação da formação de malondeído e mensurada através da análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, o TBARS (Zimmerman & Kirsten, 2016; Schuch et al. 2014; Engers et al. 2013).

De um modo geral, a capacidade de antioxidante total (CAOT) dos organismos pode ser mensurada através da análise de todos os antioxidantes disponíveis e presentes em qualquer amostra biológica, extrato vegetal ou em alimentos (Ferrari, 2010; Vierci & Ferro, 2019). Na análise obtém-se um parâmetro integrado, capaz de revelar o equilíbrio redox existente. A dosagem da CAOT facilita a avaliação dos fatores nutricionais, fisiológicos e ambientais do balanço redox em seres humanos (Reinert, 2020).

Na última década cresceu o interesse pela indústria farmacêutica no efeito *off label* de alguns medicamentos, dentre eles os anti-inflamatórios (Silva, 2018). O ácido acetilsalicílico, um fármaco do grupo dos não-esteroidais (AINES), mais conhecido como AAS, possui funções anti-inflamatória, analgésica e antipirética sendo utilizado como coadjuvante em tratamentos cardíacos e distúrbios cardiovasculares devido sua ação antiplaquetária (Graeff, 2011; Moreira, 2014) e em

algumas pesquisas, como as realizadas por Fuchs e Wannmacher (2004) e Carrett-Dias e colaboradores (2011) o fármaco apresentou ainda efeito antioxidante.

O desequilíbrio da atividade redox do organismo influencia no desenvolvimento e melhora de alguns estados patológicos. A busca por efeitos além dos desejados em fármacos já existentes no mercado origina áreas alternativas de estudos e diminui custos com a fabricação de novos medicamentos. Objetivou-se neste estudo investigar o status redox de pacientes portadores de patologias cardíacas e/ou coronarianas usuários de ácido acetilsalicílico comparando com indivíduos hígidos e voluntários cardiopatas não usuários da medicação através da determinação dos níveis de GSH, TBARS e capacidade antioxidante total no soro dos voluntários.

2. Metodologia

A análise do status redox deu-se através da elaboração de três grupos totalizando 25 voluntários. O primeiro grupo consistiu-se em pessoas hígidas, o segundo de voluntários com doenças coronarianas que não fazem uso do medicamento teste (CNAAS) e o terceiro grupo foi composto de voluntários portadores de doenças coronarianas e que fazem o uso do medicamento em teste na ordem de 1g/dia a mais de três semanas (AAS).

Incluiu-se no estudo, voluntários que sejam usuários de ácido acetilsalicílico a mais de três semanas, voluntário com problemas coronarianos ou doenças de base que predisponham a risco cardíaco, voluntários hígidos jovens ou adultos e ainda pessoas com doenças coronarianas ou patologias de base que predisponham ao risco cardíaco e que não façam uso do medicamento em questão. Os voluntários deveriam residir na região atendida pelo posto de saúde do Bairro Berger e que obtivessem o medicamento da Farmácia Central do Município de Caçador/SC e excluiu-se aqueles que não corresponderam aos pré-requisitos.

Após aprovação de número 68481417.1.0000.5593 do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Alto Vale do Rio do Peixe- UNIARP, as amostras foram colhidas por punção venosa, utilizando agulha 25x7mm acoplada em seringa com ponta de rosca utilizando das técnicas básicas de cuidados e bem estar do voluntário. Seguinte a punção e retirada do sangue venoso, as amostras foram acondicionadas em tubo seco e de EDTA e então centrifugadas 3.500rpm por 5 minutos a fim de se obter o soro e plasma necessários para aplicação nos ensaios pré-determinados.

A partir disso, seguiu-se as análises laboratoriais como a determinação da Glutathione Redutase (GSH), a qual baseia-se na reação da glutathione com o DTNB, formando um ânion tiolato (TNB) de cor amarela mensurável em 412nm. Para o ensaio preconizado anteriormente por Beutler, Duron e Kelly (1963) utilizou-se sangue total com EDTA acidificado em ácido tricloroacético 20%. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/L}$ após a realização da curva de GSH $y = -0,0103x + 0,0618$.

Ainda, a análise dos lipoperóxidos deu-se através da metodologia de Esterbauer e Cheeseman (1990) utilizando-se de plasma com EDTA. A técnica consiste na mensuração dos produtos finais da lipoperoxidação (malondialdeído) através da reação com ácido tiobarbitúrico. As análises foram realizadas em triplicata e o produto final da reação, o MDATBA na proporção 1:2, foi expresso em TBARS $\mu\text{mol/mg}$ de proteína a 535nm.

Além disso, os organismos vivos possuem um grande número de antioxidantes naturais que incluem macro e micromoléculas e algumas enzimas que representam a atividade antioxidante total de um sistema. A capacidade total antioxidante foi determinada em 405nm utilizando-se o kit *Antioxidante Assay* (Sigma-Aldrich) onde analisou-se o potencial antioxidante redutor do cátion ABTS⁺, cromóforo de coloração verde/azul, novamente a ABTS, após ativação da metamioglobina como peroxidase. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em $\mu\text{mol/L}$ equivalente de Trolox após realização da curva $y = -0,0653x + 0,5496$.

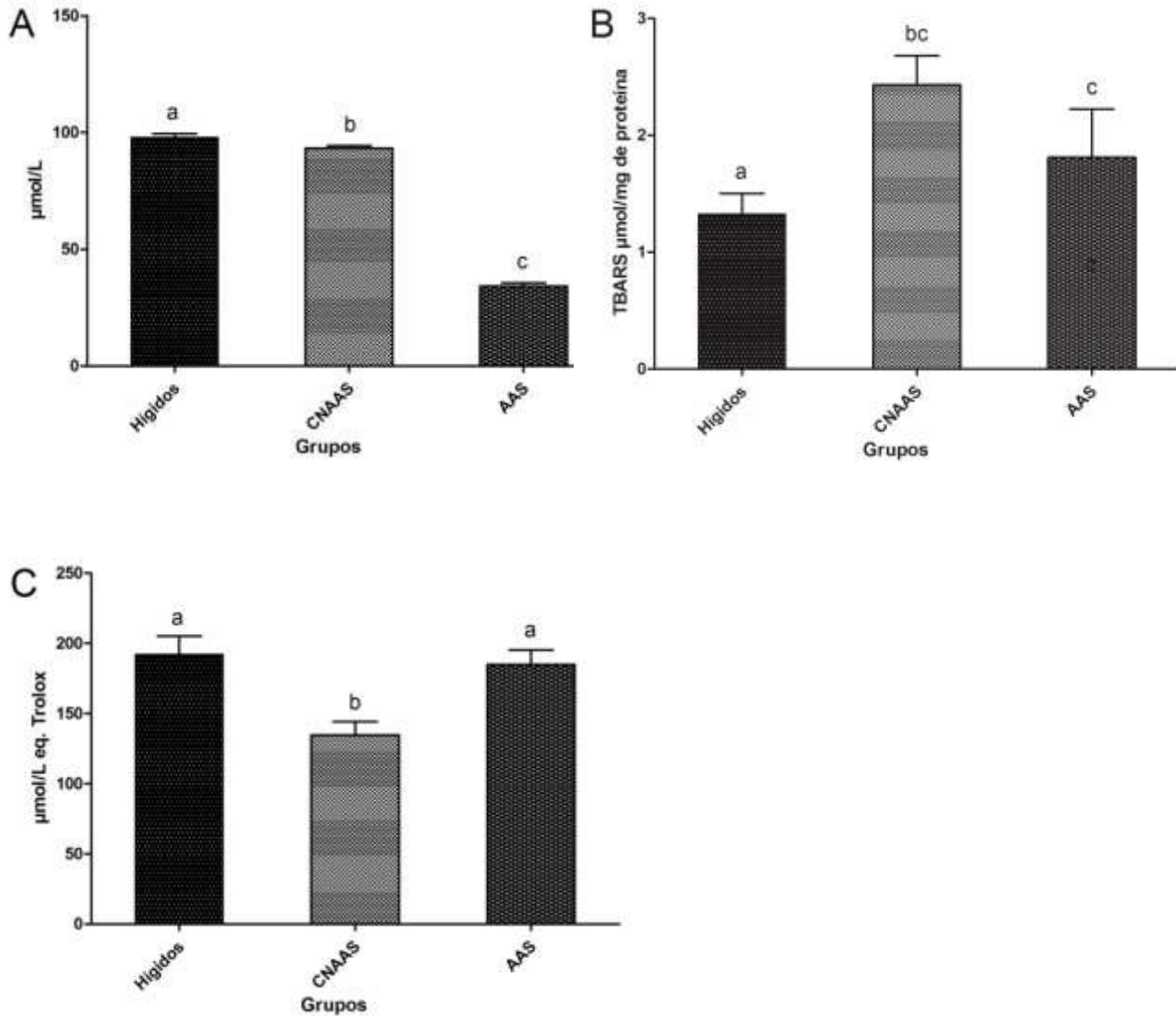
O tratamento estatístico deu-se através da realização da análise de variância (ANOVA), com $p < 0,05$ para grau de significância, seguida do teste de comparação múltipla de Tukey, e múltipla conta um valor referência Teste Dunnett, desenvolvidos com o Software GraphPad Prism versão 5.0.

3. Resultados

O estudo contou com voluntários de 19 a 96 anos com média de 55 anos de idade, 68% dos participantes eram do gênero feminino e 32% eram usuários do ácido acetilsalicílico 1g a mais de um ano. Dos 25 voluntários, 40% possuíam alguma desordem cardíaca como infarto, insuficiência cardíaca congestiva, insuficiência ou estenose da aorta em diferentes graus, sopro cardíaco, cardiomegalia, miocardiopatia hipertrófica, que já haviam passado por cirurgias cardíacas ou ainda possuíam patologias predisponentes para quadros de problemas do coração com diabetes, hipercolesterolemia e hipertensão. Do total, 12% dos voluntários relataram problemas de coagulação e por fim, 24% dos participantes praticavam alguma atividade física como caminhada, por exemplo.

Ao analisarmos a figura 1-A nota-se uma diminuição significativa nos níveis de GSH dos voluntários com desordens cardíacas e coronarianas, cerca de 65,1% em relação aos indivíduos hígidos e de 63,4% para voluntários na mesma condição fisiológica, porém que não fazem uso da medicação. Em relação a mensuração dos produtos da lipoperoxidação lipídica pelo teste de TBARS na figura 1-B, nota-se que o grupo de voluntários apresentando patologias cardíacas não usuários da medicação apresentou valores de $2,43 \pm 0,61$ $\mu\text{mol/mg}$ de proteína de TBARS, cerca de 84% a mais do que os voluntários hígidos não diferindo estatisticamente dos voluntários cardiopatas usuários da medicação que obtiveram valores aproximadamente de $1,81 \pm 1,09$ $\mu\text{mol/mg}$ de proteína. No entanto, a atividade antioxidante total no soro dos voluntários usuários da medicação e hígidos mostrou-se estatisticamente diferente do grupo dos voluntários que não fazem uso da medicação, porém iguais entre si.

Figura 1- Determinação do perfil antioxidante de voluntários hígido, cardiopatas, portadores de doenças coronarianas usuários e não usuários de AAS.



(A) Determinação dos níveis de Glutaciona Reduzida Sanguínea (GSH) em indivíduos hígidos, cardiopatas não usuários do fármaco (CNAAS) e portadores de doenças cardíacas e coronarianas usuários de AAS 1g ao dia (AAS). (B) Quantificação dos níveis de TBARS em indivíduos hígidos, cardiopatas não usuários do fármaco (CNAAS) e portadores de doenças cardíacas e coronarianas usuários de AAS 1g ao dia (AAS). (C) Atividade antioxidante total no soro de indivíduos hígidos, cardiopatas não usuários do fármaco (CNAAS) e portadores de doenças cardíacas e coronarianas usuários de AAS 1g ao dia (AAS). Letras iguais não diferem estatisticamente entre si $p > 0,05$, mas diferem estatisticamente das demais $p < 0,05$ pelo teste de Tukey. Letra sozinha difere estatisticamente das demais $p < 0,05$ pelo teste de Tukey e/ou Dunnett.

4. Discussão

A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos cumpre funções biológicas relevantes. Essa produção resulta no desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante, pela ativação de genes relacionados à expressão de enzimas e proteínas específicas, levando o substrato oxidável à regeneração, prevenindo significativamente a oxidação do mesmo tornando este sistema responsável pelo equilíbrio intra e extracelular (Barreiros et al. 2006; Manente et al. 2011).

Embora alguns anti-inflamatórios não-esteroidais possam exercer papel de *scavengers* (Ghosh, 2015), ou seja, reduzir espécies radicalares em formas radicalares menos agressivas, estes fármacos podem, potencialmente induzirem a geração de radicais superóxidos via ativação da NADPH oxidase complexo gerador do radical superóxido (Barbosa et al. 2010; Ghosh et al. 2015), fato observado por Li et al. (2008) em células endoteliais humanas da aorta e do coração. Ao analisarmos os baixos índices de GSH em usuários de ácido acetil salicílico 1g/dia, em relação aos demais grupos, levanta-se a hipótese deste fármaco exercer atividade oxidante sobre a célula, haja visto que baixos índices enzimáticos de GSH podem estar ligados ao uso de drogas oxidantes (Rover et al. 2001) e também que estas reduções enzimáticas poderiam propiciar o aumento da peroxidação lipídica nas membranas celulares, notado na quantificação dos níveis de TBARS do mesmo grupo. Mesmo assim não devemos descartar o fato que os aumentos de TBARS estão relacionados com a idade devido ao acúmulo de oxidação dos lipídeos e outros compostos como os açúcares, por exemplo (Ondei et al. 2014), sendo que tal fato pode justificar o aumento dos níveis de TBARS no grupo CNAAS, onde a maioria dos seus voluntários tinham de idades entre 60 a 80 anos.

Ainda nesta década, um estudo conduzido por Raza e John (2012), mostrou que o tratamento com ácido acetilsalicílico, independente da dose e do tempo de aplicação, em células de hepatocarcinoma humano (HepG2) causou parada no ciclo celular, aumento da produção de ROS, redução do potencial mitocondrial e alterações nas funções redox e respiratória mitocondriais além de citotoxicidade/ apoptose causado pelo uso do fármaco, sendo a homeostase da GSH normalizada após tratamento com N-acetil cisteína .

Li et al. (2008) investigaram possíveis efeitos dos AINEs em pacientes com predisposição a doença cardiovasculares, concluindo que pacientes com hipertensão, dislipidemia, *diabetes mellitus* ou insuficiência cardíaca parecem ter um risco significativamente maior e eventos cardiovasculares associado ao uso de AINEs em comparação com pacientes sem essas condições. Ainda ao evidenciar a redução da defesa antioxidante nos indivíduos usuários de AAS e considerando que a maioria dos pacientes trata contra hiperlipidemia e a hiperglicemia, pode-se levantar outra hipótese para tal evento, uma vez que estas patologias estão associadas a um aumento do estresse oxidativo, promovendo consequentemente, a depleção de antioxidantes, modificações de proteínas e lipoproteínas (Silva & Ferrari, 2011).

Em relação a atividade antioxidante total (TEAC) o grupo AAS não diferiu do grupo controle composto por indivíduos hígidos, não indicando a redução da capacidade antioxidante total. Jacob et al. (2013) e Ondei et al. (2014) relatam que além do uso de medicações oxidantes, o aumento dos níveis de TEAC deriva do aumento da geração de EROs, declínio nas defesas antioxidantes e ineficiência de remoção ou rearranjo de moléculas propensas como oxidantes. Assim sugere-se que grupos Hígidos e AAS devam ter taxas de TEAC elevadas devido ao estilo de vida, exercícios físicos ou hábitos alimentares, fatores ambientais ou efeito da própria medicação, no caso grupo AAS.

Por outro lado, a ação antioxidante dos AINEs foi descrita por Bansal e Silakari (2015) onde observaram que os fármacos Diclofenaco e Cetoprofeno diminuíam os níveis enzimáticos da catalase e GSH além dos níveis de TBARS quando acoplado com a 2-Aminobenzimidazole, sugerindo então efeito protetor contra o dano gástrico induzido pela peroxidação lipídica em modelo de úlcera gástrica em animais. Em outro modelo animal, qual foi induzido um estresse oxidativo com homocisteína, causando alterações cardiovasculares, o pré-tratamento dos animais com AAS previniu os efeitos causados pela homocisteína (Graeff, 2011).

Outros estudos relatam ainda o possível efeito de proteção a células cancerígenas por parte dos AINEs. Está claro que um dos primeiros eventos intracelulares que ocorre em células de câncer tratadas com anti-inflamatórios desta classe envolve mudanças metabólicas, especificamente em células metastáticas, diminuindo os níveis de GSH e aumentando a produção de EROs causando apoptose e eliminação dessas células, desestabilizando o equilíbrio redox e os mecanismos de defesa antioxidante dos sistemas de tiorretoxina e glutathione, resultando em um maior estado pró-oxidativo aumentando assim espécies reativas, porém sendo necessário o desenvolvimento de novas pesquisas (Ralph et al. 2015).

5. Conclusão

O aumento da atividade de lipoperoxidação lipídica e a diminuição da atividade antioxidante total dos cardiopatas não usuários da medicação, quando comparados aos voluntários Hígidos, e o desequilíbrio do status redox evidenciado pelos baixos níveis de GSH de usuários do ácido acetilsalicílico, em relação ao mesmo grupo, não pode ser diretamente relacionada ao uso do fármaco em questão, uma vez que patologias pré-disponíveis a eventos cardíacos, hábito de vida e fatores ambientais podem influenciar diretamente nos status redox dos voluntários. Há necessidade de estudos complementares em caráter controlado para que se possa determinar a relação direta entre uso do fármaco e sua atividade oxidante.

Evidencia-se a necessidade de estudos futuros de caráter complementar, em ambiente laboratorial controlado, a fim de que se possa observar diretamente a possível correlação entre o uso do fármaco em questão e sua atividade antioxidante sem a presença de interferentes biológicos que não possam ser controlados.

Referências

- Bansal, Y., & Silakari, O. (2015). 2-Aminobenzimidazole conjugates of NSAIDs: novel compounds with immunomodulatory, anti-inflammatory and antioxidant actions. *Medicinal Chemistry Research*, 24(3), 1170-1179.
- Barbosa, K. B. F., Costa, N. M. B., Alfnas, R. D. C. G., De Paula, S. O., Minim, V. P. R., & Bressan, J. (2010). Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de nutrição*, 23(4), 629-643.
- Barreiros, A. L., David, J. M., & David, J. P. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química nova*, 29(1), 113-123.
- Beutler, E. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *J. lab. clin. Med.*, 61, 882-888.
- Carrett-Dias, M., Votto, A. P. D. S., Filgueira, D. D. M. V. B., Almeida, D. V., Vallochi, A. L., D'Oca, M. G. M., & Trindade, G. S. (2011). Anti-MDR and antitumoral action of acetylsalicylic acid on leukaemic cells. *Bioscience Reports*, 31(5), 391-398.
- De Pinho R.A., de Araújo M.C., de Melo Ghisi G.L. & Benetti M. (2010). Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. *Arq Bras Cardiol*, 94(4):549-55.
- Engers, V. K., Behling, C. S., & Frizzo, M. N. (2011). A influência do estresse oxidativo no processo de envelhecimento celular. *Revista Contexto & Saúde*, 11(20), 93-102.
- Esterbauer, H., & Cheeseman, K. H. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In *Methods in enzymology* (Vol. 186, pp. 407-421). Academic Press.
- Ferrari, C. K. B. (2010). Capacidade antioxidante total (CAT) em estudos clínicos, experimentais e nutricionais. *J Health Sci Inst*, 28(4), 307-10
- Fuchs, F. D., & Wannmacher, L. (1992). Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional. In *Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional* (pp. 691-691).
- Ghosh, R., Alajbegovic, A., & Gomes, A. V. (2015). NSAIDs and cardiovascular diseases: role of reactive oxygen species. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015.
- Gottlieb, M. G. V., Morassutti, A. L., & da Cruz, I. B. M. (2011). Transição epidemiológica, estresse oxidativo e doenças crônicas não transmissíveis sob uma perspectiva evolutiva. *Scientia Medica*, 21(2).
- He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., & Ma, X. (2017). Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44(2), 532-553.
- Hiragi, C. D. O. (2010). Análise da variação de marcadores genéticos associados ao estresse oxidativo em grupos populacionais brasileiros.
- Jacob, K. D., Hooten, N. N., Trzeciak, A. R., & Evans, M. K. (2013). Markers of oxidant stress that are clinically relevant in aging and age-related disease. *Mechanisms of ageing and development*, 134(3-4), 139-157.
- Li, H., Hortmann, M., Daiber, A., Oelze, M., Ostad, M. A., Schwarz, P. M., & Förstermann, U. (2008). Cyclooxygenase 2-selective and nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs induce oxidative stress by up-regulating vascular NADPH oxidases. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 326(3), 745-753.
- Malta, D. C., Moura, L. D., Prado, R. R. D., Escalante, J. C., Schmidt, M. I., & Duncan, B. B. (2014). Mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis no Brasil e suas regiões, 2000 a 2011. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 23, 599-608.
- Manente, F. A., Mello, L. R. D. A., Khalil, O. A. K., Carvalho, C. T. D., Bannach, G., & Velloso, J. C. R. (2011). Efeito da complexação de metais aos antiinflamatórios na ação contra agentes oxidativos e radicais livres: ação do cetoprofeno. *Eclética Química*, 36, 107-127.
- Moreira, A. L. (2014). Uso do ácido acetilsalicílico na prevenção de doenças cardiovasculares.

- Graeff, J. S. (2011). Estudo bioquímico em modelo animal de hiper-homocisteïnemia severa: papel protetor do ácido acetilsalicílico.
- de Souza Ondei, L., Teresa, F. B., & Bonini-Domingos, C. R. (2014). Avaliação de fatores preditivos de estresse oxidativo em pessoas saudáveis. *Biotemas*, 27(3), 167-173.
- Ralph, S. J., Pritchard, R., Rodríguez-Enríquez, S., Moreno-Sánchez, R., & Ralph, R. K. (2015). Hitting the bull's-eye in metastatic cancers—NSAIDs elevate ROS in mitochondria, inducing malignant cell death. *Pharmaceuticals*, 8(1), 62-106.
- Raza, H., & John, A. (2012). Implications of altered glutathione metabolism in aspirin-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in HepG2 cells. *PloS one*, 7(4), e36325.
- Reinert, C. (2020). Relação da capacidade antioxidante total da dieta com biomarcadores do estresse oxidativo e com parâmetros de composição corporal em árbitros de futebol de elite.
- Rover Júnior, L., Höehr, N. F., Vellasco, A. P., & Kubota, L. T. (2001). Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. *Química Nova*, 24(1), 112-119.
- Schuch, F. B., Vasconcelos-Moreno, M. P., Borowsky, C., Zimmermann, A. B., Wollenhaupt-Aguiar, B., Ferrari, P., & de Almeida Fleck, M. P. (2014). The effects of exercise on oxidative stress (TBARS) and BDNF in severely depressed inpatients. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 264(7), 605-613.
- Silva, A. F. M. (2018). *Uso off-label de medicamentos: um tema controverso* (Doctoral dissertation).
- Silva, C. T. D., & Jasiulionis, M. G. (2014). Relação entre estresse oxidativo, alterações epigenéticas e câncer. *Ciência e cultura*, 66(1), 38-42.
- Silva, W. J. M. D., & Ferrari, C. K. B. (2011). Metabolismo mitocondrial, radicais livres e envelhecimento. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 14, 441-451.
- Vierci, G. E., & Ferro, E. A. (2019). Total antioxidant capacity associated to the intake of fruits and vegetables in young adults from Asuncion, Paraguay. *Nutricion Hospitalaria*, 36(1), 118-124.
- Zimmermann, A. M., & Kirsten, V. R. (2008). Alimentos com função antioxidante em doenças crônicas: uma abordagem clínica. *Disciplinarum Scientia/Saúde*, 9(1), 51-68.