

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Departamento de Alimentos e Nutrição

Mestrado em Alimentos e Nutrição

**PERFIL SÉRICO DE ESTRESSE OXIDATIVO, ANTIOXIDANTES E
MICRONUTRIENTES EM PACIENTES COM HANSENÍASE**

Fabiana Maciel de Oliveira

Araraquara - SP

2012

FABIANA MACIEL DE OLIVEIRA

**PERFIL SÉRICO DE ESTRESSE OXIDATIVO, ANTIOXIDANTES E
MICRONUTRIENTES EM PACIENTES COM HANSENÍASE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP, para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro

Araraquara - SP

2012

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro

Orientador

Prof. Dr. Marco Andrey Cipriani Frade

Profa. Dra. Maria Rita Marques de Oliveira

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Geraldo e Vanda, por todo amor e carinho incondicionais e pela confiança e apoio em tudo que faço. Às minhas irmãs e prima Carolina, Liliane e Cristhiane, pela amizade, incentivo e acolhida. Ao meu noivo Miguel, pelo amor e companheirismo em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

À Deus, sempre presente em minha vida. “Sou em Ti, És em mim, minha alma diz meu Deus como És lindo (...)”.

À minha família, que investiu e acreditou em mim, e que renunciou a muitas coisas para me oferecer a melhor educação possível.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Anderson Marliere Navarro, pelo voto de confiança em me orientar, por sua generosidade, paciência, disponibilidade e contribuição profissional.

Ao Prof. Dr. Marco Andrey Cipriani Frade, pela disponibilidade e paciência, cuja ajuda foi essencial para desenvolvimento do trabalho.

Às Profas. Dras. Thaís Borges César e Maria Rita Marques de Oliveira, pelas produtivas observações no exame geral de qualificação e participação na banca de defesa, respectivamente.

A todos os colegas da pós-graduação, pela amizade, companheirismo, incentivo e toda ajuda dispensável ao longo desse período em que estivemos juntos.

Aos professores e funcionários da pós-graduação em Araraquara e Ribeirão Preto, em especial ao Laboratório de Cultura de Células da Profa. Dra. Norma Tiraboschi Foss, e ao laboratório de Nutrição e Metabolismo do Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Júnior, destacando também a ajuda indispensável da técnica Paula Payão Ovidio.

Ao Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico (PADC/UNESP), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelos auxílios financeiros e bolsa de mestrado concedidos.

Sumário

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
INTRODUÇÃO	15
OBJETIVO.....	18
CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
1.1 HANSENÍASE.....	20
1.1.1 Aspectos epidemiológicos.....	22
1.1.2 Classificação.....	23
1.1.3 Diagnóstico e tratamento.....	25
1.2 ESTRESSE OXIDATIVO.....	27
1.2.1 Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio.....	28
1.2.2 Sistema antioxidante: enzimático não enzimático.....	30
1.2.3 Marcadores de estresse oxidativo.....	33
1.2.4 Estresse oxidativo e hanseníase.....	34
1.3 MICRONUTRIENTES.....	36
1.3.1 Hanseníase e micronutrientes.....	37
1.4 REFERÊNCIAS.....	40
CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO	
Estresse oxidativo e micronutrientes em pacientes com hanseníase: ausência de relação com APGL1.....	52
Resumo.....	53
Introdução.....	54
Materiais e Métodos.....	56
Resultados.....	57
Discussão.....	59
Referências.....	64
Tabelas.....	70

ANEXOS

Anexo A: Protocolo CEP/HCFMRP – USP.....72
Anexo B: Comprovante de submissão do artigo em periódico.....73

RESUMO

A hanseníase é uma doença infectocontagiosa causada pelo bacilo *Mycobacterium leprae* e endêmica em muitos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, inclusive o Brasil. O diagnóstico ainda é complexo e muitas vezes dificultado por vários aspectos, como por exemplo, a ampla variedade de manifestações clínicas e aos diferentes tipos e graus de resposta imune do hospedeiro. O estresse oxidativo, depleção antioxidante e alteração de micronutrientes são importantes condições metabólicas observada nos pacientes com hanseníase. A investigação e elucidação desses mecanismos são importantes, uma vez que podem levar a descoberta de fatores associados à suscetibilidade/resistência a doença e à caracterização das alterações bioquímicas e nutricionais observadas nos pacientes. Nesse sentido, foi realizado um estudo observacional do tipo transversal no qual participaram 62 pacientes com hanseníase antes do tratamento poliquimioterápico e 30 indivíduos saudáveis, todos adultos e de ambos os gêneros. Foram quantificados sorologicamente o marcador de peroxidação lipídica malondialdeído, os antioxidantes glutathiona reduzida e vitamina E, além do anticorpo glicolipídio fenólico 1 que foram comparados entre o grupo controle *versus* grupos com hanseníase, multibacilar e paucibacilar, além dos minerais selênio, zinco, cobre e magnésio, quantificados no grupo com hanseníase, que foram avaliados segundo valores de referência da literatura. Foi avaliada também a associação do anticorpo (prediz a carga bacilar) com as demais variáveis quantificadas no estudo. Foram observados aumento do marcador de peroxidação lipídica e redução de antioxidantes nos pacientes com hanseníase, ressaltando que os paucibacilares apresentaram maior nível de glutathiona reduzida em relação aos multibacilares e semelhante ao grupo controle. Foi observado também baixo nível de magnésio em todos os pacientes com hanseníase, indicando uma possível deficiência crônica

desse micronutriente. Não foi observada associação do anticorpo glicolípido fenólico 1 com as outras variáveis nesse estudo. Em conclusão, os resultados mostraram aumento do estresse oxidativo e depleção antioxidante na hanseníase, o que parecem estar associados à consequência da doença devido ao desencadeamento da resposta imune do hospedeiro frente à infecção pelo bacilo. Além disso, maior nível sérico de glutathiona reduzida observada nos paucibacilares reforça os achados de que esse grupo possui maior defesa antioxidante em relação aos multibacilares. Destaca-se uma importante deficiência de magnésio observada em todos os pacientes com hanseníase desse estudo, o que pode estar atribuída a um dos vários fatores que aumentam a suscetibilidade dos indivíduos em adquirir a doença.

Palavras – chave: hanseníase, estresse oxidativo, antioxidantes, micronutrientes.

SUMMARY

Leprosy is an infectious-contagious disease caused by the bacillus *Mycobacterium leprae* and is endemic in many underdeveloped countries, including Brazil. The diagnosis is still complex and is often impaired by several factors such as the wide variety of clinical manifestations and the different types and degrees of the host immune response. Oxidative stress, antioxidant depletion and changes in micronutrients are important metabolic conditions observed in leprosy patients. The investigation and elucidation of these mechanisms are important since they can lead to the discovery of factors associated with susceptibility/resistance to the disease and to the characterization of the biochemical and nutritional changes observed in these patients. On this basis, a cross-sectional observational study was conducted on 62 leprosy patients before polychemotherapeutic treatment and on 30 healthy individuals of both genders. The lipid peroxidation marker malondialdehyde, the antioxidants reduced glutathione and vitamin E, as well as the phenolic glycolipid-1 antibody were determined in serum and compared between the control group and the groups with multibacillary and paucibacillary leprosy. In addition, the minerals selenium, zinc, copper and magnesium were quantitated in the leprosy group and evaluated according to literature reference values. The association of the antibody (which predicts the bacillary load) with the remaining variables quantitated in this study was also evaluated. Increased levels of the lipid peroxidation marker and reduced antioxidant levels were observed in the leprosy patients, with emphasis on the fact that paucibacillary patients had higher reduced glutathione levels than multibacillary patients which were similar to those of control subjects. A low magnesium level was also observed in all leprosy patients, indicating a possible chronic deficiency of this micronutrient. No association was observed between the glycolipid phenol-1 antibody and the other variables

studied. In conclusion, the present results showed an increased oxidative stress and antioxidant depletion in leprosy, which appeared to be associated with the consequences of the disease due to the triggering of the host immune response to infection with the bacillus. In addition, the higher serum levels of reduced glutathione observed in the paucibacillary patients suggests that this group may have a greater antioxidant defense compared to multibacillary patients. Finally, the important magnesium deficiency observed in all leprosy patients studied is emphasized, possibly being attributed to one of the various factors that increase individual susceptibility to the acquisition of the disease.

Key-words: leprosy, oxidative stress, antioxidants, micronutrients.

INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença infectocontagiosa, de evolução crônica e longo período de incubação, causada pelo bacilo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*). (MENDONÇA et al., 2008; GOMES et al., 2007). A doença atinge preferencialmente pele e nervos periféricos, com surgimento de lesões cutâneas com alterações da sensibilidade tátil, térmica e a dor (TALHARI e NEVES, 1997). Podem vir acompanhadas de episódios reacionais que se caracterizam por fenômenos agudos decorrentes do processo inflamatório e da resposta imunológica do hospedeiro, e que são considerados potencialmente responsáveis pela perda funcional dos nervos periféricos e agravante da incapacidade (FOSS et al., 2003).

O diagnóstico precoce e manejo terapêutico adequado são imprescindíveis no bom prognóstico da doença, entretanto, esses ainda constituem uns dos vários desafios atuais da hanseníase. O diagnóstico ainda é complexo e dificultado por muitos aspectos, dentre eles a falta de capacitação dos profissionais de saúde e à ampla variedade de manifestações clínicas oriundas dos diferentes tipos e graus da resposta imune desenvolvida pelo hospedeiro frente à infecção pelo bacilo.

O estresse oxidativo vem sendo apontado como uma importante condição metabólica observada em pacientes com hanseníase. Estudos recentes avaliaram diferentes marcadores e antioxidantes nas formas clínicas da doença, no entanto, ainda não estão estabelecidos quais parâmetros que melhor retratam tal condição e permanece obscuro se as alterações observadas estão relacionadas à causa ou consequência da doença (ABDEL-HAFEZ et al., 2009; JYOTHI et al., 2008; PRASAD et al., 2008; LIMA et al., 2007; PRASAD et al., 2007). Além disso, já é bem estabelecida na literatura a participação cardinal de determinados minerais no sistema de defesa antioxidante e na resposta imune (CATANIA et al., 2009; PRASAD, 2009;

ARNAUD, 2008), porém, são remotos os estudos da literatura que avaliaram micronutriente em pacientes com hanseníase.

A investigação do perfil de estresse oxidativo, antioxidantes e micronutrientes nas diferentes formas clínicas da hanseníase é importante e constitui um campo promissor. Uma vez elucidados esses mecanismos na população resistente e suscetível a doença, e dentre os suscetíveis, nas diferentes formas clínicas da hanseníase, será possível traçar hipóteses que estejam associadas à suscetibilidade/resistência a hanseníase e às alterações bioquímicas e nutricionais observadas nesses pacientes.

Da mesma forma, a detecção de baixos níveis de antioxidantes possibilita intervenção nutricional por meio da suplementação ou dieta específica. Alguns estudos revelam essa tendência, porém os dados disponíveis ainda são insuficientes e inconclusivos (VIJAYARAGHAVAN *et al.*, 2005; RIMOLI, 2006).

Hoje em dia, apesar de estabelecida a cura e tratamento para a doença e sendo esse tratamento disponível gratuitamente à população, a hanseníase ainda permanece como um grave problema de saúde pública, devido ao grande potencial em gerar sequelas e incapacidade permanente e também por acometer a faixa etária economicamente ativa da população, gerando prejuízos ao sistema previdenciário do país.

De acordo com dados publicados pela *World Health Organization* (WHO), o Brasil permanece em 1º lugar no número de casos da América Latina e em 2º lugar no mundo, atrás somente da Índia (WHO, 2011). Apesar da redução dos indicadores observada nos últimos anos, o padrão espacial da hanseníase no Brasil permanece o mesmo e a meta de eliminação da doença, que é chegar a menos que 1 caso por 10 mil habitantes, ainda não foi atingida. Por isso, é imprescindível uma constante vigilância para novos casos, em especial nos menores de 15 anos, bem como acompanhamento daqueles já existentes (BRASIL, 2005).

Vale destacar que a hanseníase, ainda estigmatizada nos dias atuais, é uma doença que atinge prioritariamente populações carentes que vivem em condições socioeconômicas desfavoráveis (MONTENEGRO et al., 2011), o que muitas vezes resulta em indivíduos com estado nutricional inadequado, seja de macro ou micronutrientes, que por sua vez predispõe ao desenvolvimento de doenças e prejuízos no tratamento e cura.

Portanto, a realização de mais estudos com hanseníase, sejam eles associados à causa ou consequência da doença, se faz necessária. Em especial estudos populacionais de investigação dos fatores associados à suscetibilidade/resistência, a fim de contribuir no rastreamento da doença (comunicantes de risco) e diagnóstico precoce.

OBJETIVO

Investigar os perfis séricos de estresse oxidativo, dos antioxidantes e dos micronutrientes em pacientes com hanseníase, por meio da quantificação do marcador de peroxidação lipídica TBARS, antioxidantes glutathiona reduzida e vitamina E comparados entre o grupo com a doença e controle, também da quantificação dos minerais selênio, zinco, cobre e magnésio no grupo com a doença, comparados com valores de referência, além da associação dessas variáveis com a sorologia dosada pelo anticorpo glicolípido fenólico 1.

Capítulo 1

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 HANSENÍASE

A hanseníase é uma doença infectocontagiosa, de evolução crônica e longo período de incubação, que pode variar de dois a cinco anos. É causada pelo bacilo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), microrganismo intracelular obrigatório, com tropismo para os nervos periféricos, de alta infectividade e baixa patogenicidade (estima-se que 95% dos indivíduos apresentam defesa natural contra o bacilo) (MENDONÇA et al., 2008; GOMES et al., 2007).

A transmissão da doença ocorre através do convívio íntimo e prolongado com pessoas contaminadas pela forma contagiosa (ou forma bacilífera) e sem tratamento, associado a condições socioeconômicas desfavoráveis. O trato respiratório é considerado a mais provável via de propagação e penetração dos bacilos no organismo (TALHARI e NEVES, 1997).

A doença atinge preferencialmente a pele e nervos periféricos da face, olhos, orelhas, membros inferiores e superiores, com surgimento de lesões cutâneas e/ou espessamento de nervos, acompanhadas de redução da sensibilidade tátil, térmica e a dor. E ainda, em casos de episódios reacionais (surto agudos inflamatórios e imunológicos decorrentes do tratamento) outros órgãos podem ser acometidos como fígado, baço e rins (LUSTOSA et al., 2011; EIDT, 2004; TALHARI e NEVES, 1997).

É importante destacar que o comprometimento neural periférico pode ocorrer antes, durante ou após o fim do tratamento medicamentoso, sendo esse responsável pela maioria das deformidades associadas à hanseníase, e que se não diagnosticadas e tratadas precocemente, podem levar a incapacidade permanente (FOSS et al., 2003; GARBINO et al., 2003). Apesar de hoje em dia haver uma cura efetiva com o tratamento medicamentoso, a doença ainda

deixa milhares de pacientes curados com sequelas decorrentes de danos neurais (BÜHRER-SÉKULA, 2008).

O desenvolvimento da doença irá depender do tipo e grau da resposta imune produzida pelo hospedeiro frente à infecção pelo bacilo *M. leprae*. A principal defesa contra a infecção microbiana se dá através da ativação macrofágica, que por sua vez produz citocinas que atuam sobre os linfócitos T CD4+ que se subdividem nas populações Th1 e Th2. Sabe-se que a população Th1 é responsável pela manutenção da resposta imune celular, ao passo que a população Th2 promove supressão da atividade macrofágica (FOSS, 1997b). A literatura relata influência dos fatores genéticos envolvidos na suscetibilidade/resistência individual a doença, entretanto, ainda são desconhecidos os genes responsáveis e suas funções biológicas (PALÁCIOS et al., 2010; PREVEDELLO e MIRA, 2007).

Diante disso, a doença pode adquirir características da forma resistente onde há exacerbação da resposta imune celular eficaz para a morte dos bacilos, com formação de granulomas bem definidos e limitação das lesões. Ou pode adquirir características da forma suscetível onde há predomínio da resposta imune humoral ineficaz para a morte dos bacilos, com conseqüente disseminação bacilar para o tecido nervoso e vísceras. Do ponto de vista epidemiológico, essa forma é a de maior importância devido a grande quantidade de bacilos que o hospedeiro carrega no corpo, sendo responsável pela transmissão da doença por contato físico (FOSS, 1997b).

A relação entre doença, nutrição e imunidade, ainda que não elucidada completamente, é verificada em muitos estudos que mostram um aumento do catabolismo frente a uma doença, o que leva a um aumento das necessidades nutricionais visando assegurar eficiência da resposta imune, sendo esta dependente de uma elevada taxa de replicação celular e síntese de compostos proteicos ativos (BRUNETTO et al., 2007;

ARAÚJO, 2003).

Sendo assim, é importante considerar os efeitos benéficos da nutrição na prevenção e no bom prognóstico da doença, bem como dos efeitos deletérios de uma dieta deficiente. Por isso o papel da nutrição é de grande relevância diante da complexidade da hanseníase e deve-se fazer presente em suas diferentes facetas.

1.1.1 Aspectos epidemiológicos

Segundos dados recentes, o Brasil permanece em 1º lugar no número de casos da América Latina e em 2º lugar no mundo, atrás somente da Índia (WHO, 2011). O coeficiente de prevalência nacional é de 1,54 casos por 10 mil habitantes, sendo detectados 33.955 mil novos casos em 2011. Desse total, 2.420 foram em menores de 15 anos com um coeficiente de prevalência de 5,22 casos por 10 mil habitantes, ambos os indicadores citados considerados muito altos.

Atualmente, a detecção de novos casos em menores de 15 anos vem sendo adotada como principal indicador de monitoramento da endemia, uma vez que a hanseníase possui um longo período de incubação. A ocorrência da doença nessa faixa etária indica a precocidade da exposição e persistência de transmissão, sendo assim um importante elemento para avaliação da sua gravidade e magnitude (PALÁCIOS et al., 2010; LANA et al., 2007).

Entre as regiões do Brasil, as centro-oeste e norte são consideradas mais prevalentes (3,75 e 3,49 casos por 10 mil habitantes, respectivamente) e as regiões sul e sudeste menos prevalentes (0,44 e 0,61 casos por 10 mil habitantes, respectivamente). A região nordeste encontra-se intermediária, com um coeficiente de prevalência de 2,35 casos por 10 mil habitantes (BRASIL, 2012).

Vale destacar que, embora nos últimos anos tenha se observado redução nos indicadores da hanseníase, o padrão espacial da doença permanece o mesmo, ou seja, ainda

persistem áreas hiperendêmicas associadas a baixos índices de desenvolvimento humano. Condições precárias de moradias, baixa escolaridade e baixo poder aquisitivo são fatores que tornam o meio e o indivíduo mais suscetíveis às infecções, afetam diretamente o estado nutricional e compromete o sucesso do tratamento.

Por isso, esforços são necessários para que haja mudanças positivas no cenário nacional da hanseníase e também para que se atinja a meta de eliminação da doença proposta pela *World Health Organization* (WHO) e adotada pelo Ministério da Saúde (MS), que é chegar a menos de 1 caso por 10 mil habitantes até 2015. Por isso, se tornam imprescindíveis uma constante vigilância para novos casos, bem como acompanhamento daqueles já existentes.

1.1.2 Classificação

A hanseníase é uma doença que recebe diversas classificações por apresentar uma variedade de características clínicas, patológicas e imunológicas.

A classificação de Madri (1953) é baseada na polaridade da hanseníase, considerando aspectos bacteriológicos, imunológicos e histopatológicos. São definidos os grupos polares que incluem as formas tuberculóide e virchowiana, o grupo transitório e inicial que inclui a forma indeterminada e o grupo instável que inclui a forma *borderline* ou dimorfa (SOUZA, 1997).

A classificação de Ridley e Jopling (1966) é baseada na distribuição espectral da doença e considera as variações do tipo e grau da resposta imune desenvolvida pelo hospedeiro (FOSS, 1997a). Esse entendimento é importante, uma vez que o estresse oxidativo está diretamente relacionado aos aspectos imunopatológicos da hanseníase.

De acordo com essa classificação, a distribuição espectral que engloba as diferentes formas clínicas da doença se situa entre dois extremos: o polo virchowiano de alta

suscetibilidade e o polo tuberculóide de alta resistência (FOSS, 1997a). O quadro 1 apresenta as principais características desses polos:

Quadro 1. Características polares da hanseníase de acordo com a distribuição espectral.

POLO VIRCHOWIANO	POLO TUBERCULÓIDE
1- Baixa resistência à infecção (ou alta suscetibilidade)	1- Alta resistência à infecção (ou baixa suscetibilidade)
2- Alta disseminação bacilar	2- Baixa disseminação bacilar
3- Predomínio de resposta imune humoral ineficaz para a morte dos bacilos	3- Exacerbação da resposta imune celular eficaz para a morte dos bacilos
4- Formação de células de virchow: macrófago rico em bacilos que foi incapaz de destruir o microrganismo	4- Limitação das lesões e granulomas bem definidos

Dos indivíduos suscetíveis à infecção pelo *M. leprae*, a doença pode evoluir para o polo virchowiano onde se situa a forma clínica virchowiana (forma contagiosa ou bacilífera devido à alta carga bacilar). Ou ainda, pode evoluir para o polo tuberculóide onde se situa a forma clínica tuberculóide (forma resistente com destruição eficaz dos bacilos e tendência a cura). Entre os polos, encontram-se as formas instáveis da doença também conhecidas como dimorfas, que podem adquirir características do polo virchowiano, denominada de dimorfa-virchowiana, ou adquirir características do polo tuberculóide, denominada de dimorfa-tuberculóide, ou ainda permanecer como dimorfa, sendo denominada de dimorfa-dimorfa (FOSS, 1997a; FOSS, 1997b; SOUZA, 1997) (Figura 1).

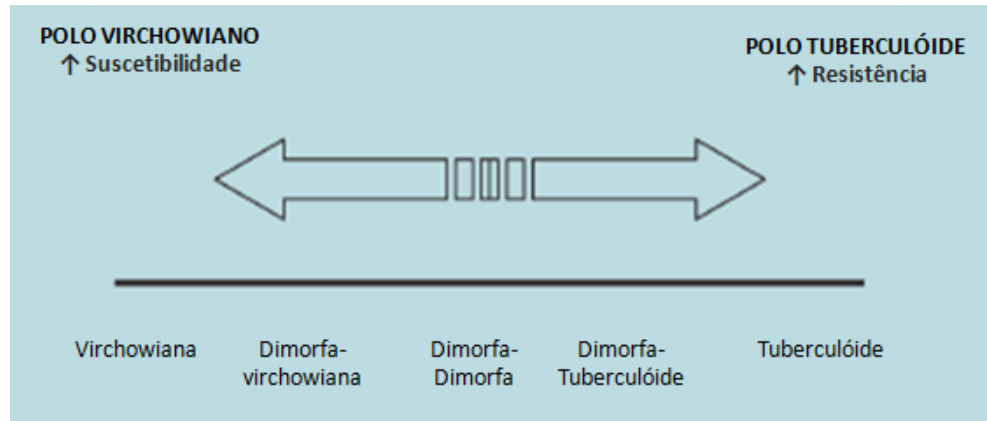


Figura 1. Representação da variação da resposta imunológica ao longo do espectro da classificação de Ridley e Jopling (1966)

Nesse estudo, foi adotada a classificação proposta pela WHO, de caráter simplificado e operacional, a fim de expandir a campanha para eliminação da hanseníase. Essa classificação é baseada na contagem do número de lesões da pele e nervos envolvidos, sendo agrupadas em paucibacilares (PB) quando apresentam de uma a cinco lesões (englobam as formas clínicas do polo tuberculóide), ou multibacilares (MB) quando apresentam mais de cinco lesões (englobam as formas clínicas do polo virchowiano) (WHO, 2012; MENDONÇA et al., 2008).

1.1.3 Diagnóstico e tratamento

Segundo o Guia da Hanseníase do MS, o diagnóstico positivo ocorre quando o paciente apresenta uma ou mais das seguintes características: lesões da pele com alterações da sensibilidade, comprometimento de nervos com espessamento neural ou baciloscopia positiva (BRASIL, 2002). No entanto, é importante ressaltar a complexidade do diagnóstico que se baseia no conjunto de sintomas clínicos, microscopia e/ou baciloscopia (FROTA et al., 2010). Muitos aspectos dificultam o diagnóstico correto e precoce, especialmente quando se trata da classificação mais adequada para fins terapêuticos (BÜHRER-SÉKULA, 2008), dentre eles a

falta de capacitação dos profissionais de saúde e à ampla variedade manifestações clínicas oriundas dos diferentes tipos e graus da resposta imune desenvolvida pelo hospedeiro frente à infecção pelo bacilo.

Nesse sentido, testes sorológicos têm sido utilizados como ferramentas de auxílio diagnóstico, como por exemplo, a detecção do anticorpo glicolípido fenólico 1 (APGL1) através do teste de ELISA. O glicolípido fenólico 1 é um antígeno específico da parede do *M. leprae* e reflete claramente a carga bacilar. O uso dessa ferramenta tem sido útil para diagnóstico nos multibacilares (BÜHRER-SÉKULA, 2008), ao passo que nos paucibacilares e em zonas endêmicas a sensibilidade do método se torna limitada. Isso porque nos paucibacilares o nível desse anticorpo costuma ser muito baixo ou indetectável (semelhante à população não doente) e em zonas endêmicas até mesmo a população resistente apresenta níveis elevados do anticorpo. Outras finalidades têm sido atribuídas à sorologia do APGL1 como triagens e seguimentos de contatos domiciliares, controle de endemia de determinada região, diagnóstico e previsão de surtos reacionais (FROTA et al., 2010, BÜHRER-SÉKULA, 2008).

Felizmente, hoje em dia a hanseníase tem cura e tratamento, sendo esse tratamento disponível gratuitamente à população. Em 1982, a WHO preconizou a poliquimioterapia (PQT) como tratamento para a cura da doença que é baseada na combinação entre três drogas: dapsona, rifampicina e clofazimina. A combinação das drogas e duração do tratamento variam de acordo com a idade do paciente e tipo da doença (por exemplo, o tipo PB não inclui clofazimina) (WHO, 2012).

Vale ressaltar que desde 1995 a WHO passou a fornecer gratuitamente esses medicamentos para os países endêmicos. No Brasil a PQT começou a ser utilizada em 1986

sendo que em 1991 ela foi adotada oficialmente pelo MS (WHO, 2012; GOULART et al., 2002).

Além da administração de medicamentos, o tratamento integral da hanseníase deve incluir acompanhamento do caso a fim de monitorar eventuais efeitos colaterais, orientação ao paciente para o auto-cuidado e prevenção da incapacidade (BRASIL, 2002).

Por fim, é importante entender a complexidade da hanseníase como um grave e persistente problema de saúde pública, sendo a doença ainda estigmatizada e em sua maioria representada pelas classes sociais mais baixas, com diagnóstico e terapêutica complexos e dificultados por diversos fatores, mesmo que nos dias atuais exista cura e tratamento gratuito disponível à população.

1.2 ESTRESSE OXIDATIVO

Por definição, o estresse oxidativo é considerado uma condição metabólica na qual há um desequilíbrio entre os sistemas pró e antioxidante (ou de defesa) no organismo *in vivo*, prevalecendo o pró-oxidante. Essa condição é capaz de intermediar diversos danos a célula por meio da oxidação de biomoléculas como lipídios, proteínas e DNA (BARBOSA et al., 2008; VASCONSELOS et al., 2007; VALKO et al., 2006).

É importante destacar que a produção de espécies reativas ocorre normalmente no organismo, pois diferentes funções fisiológicas utilizam reações de óxido-redução em alguma(s) etapa(s) do seu processo. Por outro lado, o organismo conta com uma série de substâncias (enzimas e moléculas) cuja função é neutralizar essas espécies quando produzidas em excesso. O delicado balanço entre a produção/consumo desses compostos é chamado de regulação redox, que mantém a homeostase redox *in vivo* (VALKO et al., 2006).

Além da geração endógena, as espécies reativas também podem ter origem exógena (exposição aos raios UV, radiação ionizantes, quimioterápicos e xenobióticos) (VASCONSELOS et al., 2007), assim como os antioxidantes, cuja alimentação adequada (fonte exógena) fornece vários nutrientes necessários para atuação eficiente do sistema de defesa.

Diversos estudos apontam para o estresse oxidativo como sendo causa ou consequência de inúmeras doenças em humanos, além do próprio envelhecimento (VALKO et al., 2006). A cronicidade desse processo tem sido associada a doenças como aterosclerose, diabetes, câncer, transtornos neurodegenerativos, entre outros (BARBOSA et al., 2008).

1.2.1 Espécies reativas de oxigênio (ERO's) e espécies reativas de nitrogênio (ERN's)

Os oxidantes podem ser agrupados em espécies reativas de oxigênio (ERO's) e espécies reativas de nitrogênio (ERN's), sendo ambas essenciais para o metabolismo humano e produzidas constantemente pelo organismo em diferentes condições fisiológicas.

As espécies reativas incluem os radicais livres, definidos como átomo ou molécula que contém um ou mais elétrons desemparelhados em sua última camada eletrônica, sendo que essa característica lhes confere alta reatividade. Ou ainda podem ser espécies reativas não radicalares que, embora sem elétrons desemparelhados, possuem reatividade significativa agindo como oxidantes (BARBOSA et al., 2008; VASCONSELOS et al., 2007).

Em sistemas biológicos, as ERO's representam a classe mais importante das espécies reativas (VALKO et al., 2006; MILLER et al., 1990). No metabolismo aeróbico, durante o processo que ocorre na cadeia transportadora de elétrons (CTE) na mitocôndria, o oxigênio molecular (O_2) é reduzido até a água (H_2O) com ganho de quatro elétrons, a fim de produzir energia na forma de adenosina trifosfato (FERREIRA e MATSUBARA, 1997). Durante as etapas de redução são produzidos intermediários reativos do O_2 , sendo que de 1-3% desses

escapam da mitocôndria. Caso não sejam recuperados por enzimas ou moléculas antioxidantes, esses intermediários podem oxidar biomoléculas como ácidos graxos polinsaturados da membrana celular plasmática ou nuclear. Em sistemas biológicos também são produzidas as ERN's, como por exemplo na defesa imunológica (VALKO et al., 2006).

As principais espécies reativas estão listadas a seguir:

- ✓ **radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$):** considerado o ERO primário, pois a partir dele são formados os outros ERO's secundários através de processos fisiológicos, em sua maioria pelo metabolismo aeróbico (CADENAS e SIES, 1998), ou pela ativação do O_2 através da irradiação física (VALKO et al., 2006; VALKO et al., 2005);
- ✓ **radical hidroxila (HO^{\cdot}):** considerado o mais reativo e perigoso dos ERO's, pois devido a meia-vida extremamente curta, sua neutralização pelos antioxidantes é dificultada e dificilmente ocorre (VASCONSELOS et al., 2007). Por isso, logo que produzido esse radical reage perto do seu local de formação (VALKO et al., 2006). O radical HO^{\cdot} é capaz de lesar uma série de moléculas como o DNA levando a sua mutação ou inativação, proteínas da membrana celular ou enzimas através da oxidação de seus grupos sulfidrilas (-SH), além de ácidos graxos polinsaturados presentes nas membranas celulares, culminando numa cascata de reações que levam a produção de intermediários reativos e produtos, dentre eles o malondialdeído (MDA) (FERREIRA e MATSUBARA, 1997);
- ✓ **peróxido de hidrogênio (H_2O_2):** apesar de não ser um radical livre, é capaz de gerar grandes danos devido a sua vida longa e capacidade de atravessar a bicamada lipídica das células (VASCONSELOS et al., 2007). Na presença de metais de transição, como o Fe^{2+} e Cu^{2+} , o H_2O_2 reage formando o radical HO^{\cdot} através da reação de Fenton (Equação 1). Também é produzido nos peroxissomos atuando na oxidação de várias moléculas, sendo a enzima catalase responsável por sua neutralização (VALKO et al., 2006);



- ✓ **óxido nítrico (NO[•]):** importante radical do grupo das ERN's, é sintetizado pelos tecidos biológicos através da enzima óxido nítrico sintetase, sendo responsável pela conversão do aminoácido L-arginina em L-citrulina. Está presente em abundância no organismo, pois participa de uma série de funções sinalizadoras como regulação da pressão sanguínea (vasodilatador), regulação do sistema imune, neurotransmissão e relaxamento muscular. Quando exposto ao ar, reage com o oxigênio formando o dióxido de nitrogênio (NO₂[•]) que é um potente iniciador da peroxidação lipídica (VASCONSELOS et al., 2007; VALKO et al., 2006);
- ✓ **oxigênio singlete (¹O₂):** estado eletronicamente excitado do oxigênio, com alto potencial oxidante sendo capaz de reagir com inúmeras moléculas biológicas, incluindo lipídios da membrana. Em sistemas biológicos, a geração do ¹O₂ tem sido verificada durante o processo de peroxidação lipídica, fagocitose e reações que envolvem peroxidases (VASCONSELOS et al., 2007; RONSEIN et al., 2006).

1.2.2 Sistema antioxidante: enzimático e não enzimático

Organismos aeróbicos contam com uma série de enzimas e moléculas antioxidantes que combatem a propagação e os danos causados pelas espécies reativas, conferindo proteção às células e ao sistema como um todo. Podem ser de fontes endógenas como as enzimas que atuam na mitocôndria, ou exógenas como a alimentação ou suplementação com vitaminas antioxidantes (VASCONSELOS et al., 2007).

Os principais compostos e enzimas antioxidantes estão listados a seguir:

- ✓ **superóxido dismutase (SOD):** enzima que catalisa a dismutação do radical O₂^{•-} em O₂ e H₂O₂. Existem sob duas formas no organismo: a SOD dependente de cobre (Cu) e zinco (Zn) (SOD-Cu/Zn) presente no citosol, que contém Cu²⁺ e Zn²⁺ como centros redox e cuja

atividade não é afetada pelo estresse oxidativo; e a SOD dependente de manganês (Mn) (SOD-Mn) presente na mitocôndria, que contém Mn^{2+} como centro redox e cuja atividade aumenta com o estresse oxidativo (BARREIROS et al., 2006);

- ✓ **glutathiona reduzida (GSH) e oxidada (GSSH):** a glutathiona é um tripeptídeo que coexiste no organismo em suas formas reduzida e oxidada, atuando em conjunto com suas enzimas (descritas no item abaixo) na neutralização do H_2O_2 (BARREIROS et al., 2006). A GSH é considerada o antioxidante de maior solubilidade e encontra-se em abundância no citosol, núcleo e mitocôndria (VALKO et al., 2006);
- ✓ **glutathiona peroxidase (GPx) e glutathiona redutase (GR):** a GPx é a enzima que catalisa a dismutação do H_2O_2 à O_2 e H_2O , em seguida a GR catalisa a reação de recuperação que transforma a GSSH à GSH, operando novamente o ciclo de reações (Figura 2). Vale ressaltar que a GPx apresenta selenocisteína (Se covalentemente ligado a um resíduo de cisteína), o que faz desse mineral um componente essencial para a formação da enzima, daí a sua importância na atividade antioxidante do organismo (BARREIROS et al., 2006; ROVER JÚNIOR et al., 2001);

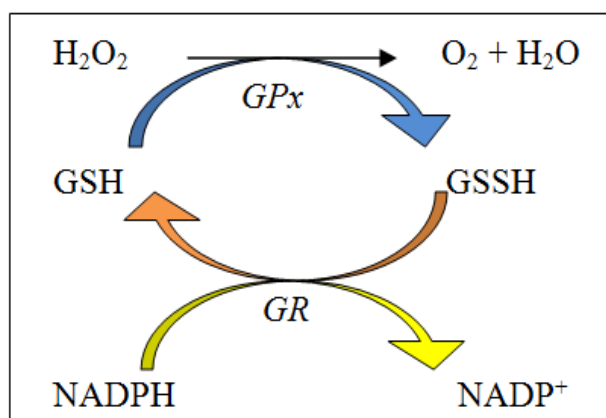


Figura 2. Ciclo do metabolismo da glutathiona

- ✓ **catalase:** enzima que catalisa a dismutação do H_2O_2 à O_2 e H_2O , assim como a GPx, só que de forma simples e direta (BARREIROS et al., 2006);
- ✓ **vitamina E:** possui duas famílias de compostos, os tocoferóis e os tocotrienóis, que se subdividem em grupos de α , β , γ , δ -tocoferol. Qualitativamente, tais compostos exercem a mesma atividade biológica do α -tocoferol, considerado o mais potente e predominante na natureza (VASCONSELOS et al., 2007). Por ser lipossolúvel, a vitamina E tem sido associada à ação contra peroxidação lipídica dos ácidos graxos polinsaturados das membranas e lipoproteínas (BARREIROS et al., 2006);
- ✓ **vitamina A:** o termo “vitamina A” abrange uma série de compostos lipossolúveis com estruturas químicas relacionadas ao retinol, incluindo os carotenóides com atividade pró-vitamina A (α -caroteno, β -caroteno e β -criptoxantina) (CATANIA et al., 2009). Tais carotenóides têm sido reconhecidos como importantes sequestradores do $^1\text{O}_2$, além de atuar como varredores de radicais peroxil, especialmente em condições de baixa tensão de oxigênio (GOMES et al., 2005; PAIVA e RUSSEL, 1999). São comumente encontrados no plasma, assim como a luteína e o licopeno, ao passo que a vitamina A é armazenada no fígado na forma de ésteres retilínicos, o que permite a manutenção dos níveis plasmáticos desse nutriente mesmo sem o seu consumo frequente (GOMES et al., 2005; RODRIGUEZ-AMAYA, 2002);

Diversos estudos investigaram outros nutrientes com funções antioxidantes, dentre eles destacam-se o licopeno (carotenóide sem atividade pró-vitamina A mas com alto potencial antioxidante), flavonóides como a quercetina e rutina, além dos outros minerais que atuam como cofatores nas enzimas antioxidantes (BARREIROS et al., 2006; VALKO et al., 2006; BIANCHI e ANTUNES, 1999).

Entretanto, é preciso cautela quanto a suplementação com antioxidantes de fontes

alimentares, visto que alguns estudos *in vivo* e *in vitro* demonstram efeitos tóxicos quando administrados em excesso.

1.2.3 Marcadores do estresse oxidativo

Esforços têm sido realizados na identificação de marcadores do estresse oxidativo em fluidos biológicos (plasma, soro ou urina) e tecidos, a fim de sistematizar sua utilização no diagnóstico e controle dos efeitos deletérios causados por esse processo (BARBOSA et al., 2008). A habilidade de detecção dos marcadores é dificultada pelas concentrações extremamente baixas e pela alta velocidade de reação dos radicais livres (FERREIRA e MATSUBARA, 1997), por isso alguns metabólitos oriundos das reações de oxido-redução são preferencialmente utilizados.

Os marcadores de estresse oxidativo se baseiam nos processos de oxidação de lipídios, proteínas e DNA, sendo que os oriundos da peroxidação lipídica são os mais utilizados tendo maior expressão (BARBOSA et al., 2008; VINCENT et al., 2007; MAYNE, 2003).

Um dos métodos mais utilizados para detecção da peroxidação lipídica se baseia em quantificar as substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS), por meio de métodos colorimétricos. Os aldeídos são substâncias geradas durante a oxidação dos lipídios, sendo o malondialdeído (MDA) o mais abundante deles e derivado principalmente dos ácidos graxos araquidônico (AA, C20:4), eicosapentaenóico (EPA, C20:5) e docosahexaenóico (DHA, C22:6) (BARBOSA et al., 2008; MAYNE, 2003).

No entanto, o método TBARS apresenta algumas limitações devido ao fato de não ser específico para o MDA, reagindo também com outros aldeídos, açúcares, aminoácidos, proteínas, aminas e bilirrubina (GROTTO et al., 2007; MAYNE, 2003), o que pode superestimar a extensão do processo de peroxidação lipídica. Ainda assim, devido à facilidade

de execução e ao baixo custo, esse método tem ampla aplicação e importância (BARBOSA et al., 2008).

Outros métodos para detecção de marcadores de peroxidação lipídica se baseiam na combinação do TBARS com cromatografia, em especial a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), além da quantificação de isoprostanos por meio de radioimunoensaios, imunoensaios enzimáticos (ELISA) e a combinação de cromatografia e espectrometria de massa (BARBOSA et al., 2008).

O estresse oxidativo também é avaliado através da quantificação de substâncias antioxidantes (enzimáticas e não enzimáticas), uma vez que baixos níveis podem indicar a instalação do processo (VIJAYARAGHAVAN et al., 2005; MEQRURY et al., 1993). Outro método utilizado se baseia na capacidade antioxidante total, onde são avaliadas as atividades das enzimas e compostos antioxidantes, inespecificamente, em fluidos ou eritrócitos, ou especificamente, utilizando métodos distintos para cada enzima ou composto (BARBOSA et al., 2008).

1.2.4 Estresse oxidativo e hanseníase

Dentre os vários fatores que influenciam na patogenia da hanseníase, o estresse oxidativo é de grande importância (VIJAYARAGHAVAN et al., 2005), uma vez que inúmeras espécies reativas são geradas durante os processos neurodegenerativos e de inflamação crônica, com consequente depleção de mecanismos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (ABDEL-HAFEZ et al., 2009). Tais condições levam o organismo ao estresse oxidativo, sendo esse um poderoso intermediário para a oxidação de lipídios presentes nas membranas, além de proteínas e DNA (VALKO et al., 2006).

Na hanseníase, a principal defesa contra a infecção microbiana é desencadeada pelos macrófagos, que leva à produção de uma variedade de ERO's, elementos fundamentais para

destruição bacilar intramacrofágica (JYOTHI et al., 2008; VALKO et al., 2006). As atuações dos macrófagos nas lesões de pele também geram ERN's, que tem sido associadas a danos nos nervos (PRASAD et al., 2008; SCHON et al., 2004). Estudos recentes mostraram o papel das ERO's como causador da hipo-responsividade, apoptose e defeitos nas vias de sinalização das células T (VIJAYARAGHAVAN et al., 2005; WALSH et al., 2004; CEMERSKI et al., 2002).

A peroxidação lipídica é um importante mediador de danos nos tecidos, sendo o MDA (produto final estável desse processo) o principal marcador utilizado na literatura. A literatura relata aumento dos níveis de MDA em pacientes portadores de hanseníase, utilizando-se diferentes materiais biológicos (soro, plasma, sangue e tecidos), sendo esse aumento mais expressivo nos multibacilares (ABDEL-HAFEZ et al.; 2009; PRASAD et al., 2008; JYOTHI et al.; 2008; BHADWAT e BORADE, 2000). A associação desse marcador com a determinação de antioxidantes constitui uma importante ferramenta no bom prognóstico, tratamento e controle da hanseníase e de outras doenças degenerativas (LIMA et al., 2006; REDDY et al., 2003).

Em pacientes com diferentes formas clínicas da doença também tem sido verificada baixas concentrações de substâncias com potencial antioxidante, como a GSH e atividade das enzimas SOD e GPx. Vale destacar que essa redução se mostra mais expressiva nos multibacilares, ocorrendo de maneira gradual do polo tuberculóide ao polo virchowiano (PRASAD et al., 2008; PRASAD et al., 2007), sendo que pacientes antes do tratamento poliquimioterápico se mostraram mais afetados negativamente quando comparados àqueles em tratamento ou após o seu término (REDDY et al., 2003)

Vale ressaltar que a terapia nutricional específica para hanseníase pode ser interessante. Estudos recentes apontam para essa tendência, porém os resultados ainda são

inconsistentes (RIMOLI, 2006; VIJAYARAGHAVAN et al., 2005), o que pode ser explicado pelo uso de nutrientes isolados. Vale ressaltar que uma alimentação adequada é capaz de fornecer diversas substâncias que podem atuar em sinergismo na proteção das células e tecidos (HERCBERG et al., 1998; JACOB, 1995; NIKI et al., 1995), como por exemplo, o efeito cooperativo da vitamina C e E na inibição da peroxidação lipídica e proteção ao DNA (BIANCHI e ANTUNES, 1999; GEY, 1998).

1.3 MICRONUTRIENTES

Os micronutrientes, embora necessários em quantidades traços no organismo, desempenham papéis essenciais em inúmeros processos bioquímicos e fisiológicos. Diversos componentes do sistema antioxidante são micronutrientes, como as vitaminas E e C ou são dependentes deles, como o mineral Se na enzima GPx e os minerais Zn, Cu e Mn na enzima SOD (EVANS e HALLIWEL, 2001). Micronutrientes também são componentes estruturais e/ou funcionais de uma série de outras metaloenzimas e metaloproteínas, e assim participam do metabolismo celular, da homeostase, da função imune, além do crescimento e desenvolvimento como um todo (WITKOWSKI et al., 2011; MAFRA e COZZOLINO, 2004).

Alguns dos micronutrientes essenciais abordados nesse estudo estão listados a seguir:

- ✓ **selênio:** o Se é um elemento traço essencial e seu baixo status tem sido associado ao aumento do risco de várias doenças como cardíacas e câncer (TINGGI, 2008). A maioria do Se presente nos tecidos está na forma de selenocisteínas nas selenoproteínas, sendo reconhecidas até o presente momento de 25 a 30 delas (COSTA, 2008). Embora muitas ainda permaneçam descaracterizadas quanto à sua funcionalidade, vale destacar algumas de suas importantes funções, como a participação na defesa antioxidante, sinalização

intracelular, homeostase redox e metabolismo hormonal da tireoide (PAPP et al., 2010).

- ✓ **zinco:** o Zn atua como molécula de sinalização intracelular, também é um agente anti-inflamatório e participa de processos importantes como a imunidade mediada por células e estresse oxidativo (PRASAD, 2009). Além de cofator da enzima antioxidante SOD, o Zn participa diretamente da neutralização do radical $\cdot\text{OH}$, induz a produção de metalotioninas (substâncias que atuam na remoção desse radical) e inibe a NADPH-oxidase (enzima envolvida na produção de ERO's) (CATANIA et al., 2009; PRASAD, 2009).
- ✓ **cobre:** o Cu participa como cofator de várias enzimas que catalisam reações fisiológicas importantes relacionadas com fosforilação oxidativa, biossíntese de colágeno e elastina, formação de melanina, metabolismo do ferro, dentre outras. Alguns exemplos de cuproenzimas são a citocromo *c* oxidase, lisil oxidase, SOD citosólica (enzima antioxidante dependente de Cu e Zn) e ceruloplasmina (oxida o Fe^{2+} liberado das reservas para Fe^{3+} , que por sua vez se liga à transferrina e é transportado para as células) (COSTA, 2008; PEDROSA e COZZOLINO, 1999). Evidências recentes relatam sua influência sobre o sistema imune, uma vez que o Cu desempenha papel importante na maturação de tecidos linfoides (MACÊDO et al., 2010; BONHAM et al., 2002).
- ✓ **magnésio:** o Mg participa como cofator de mais 325 reações enzimáticas, síntese de proteínas e balanço eletrolítico (BRILLA, 2012). A literatura relata forte influência desse mineral na inflamação e resposta imune não específica (inata) e específica (adquirida) (TAM et al., 2003). Segundo Brilla (2012), os resultados de experimentos com animais corroboram com os estudos em humanos, mostrando que a deficiência de Mg produz uma síndrome inflamatória com leucócitos e ativação de macrófagos, liberação de citocinas e produção excessiva de radicais livres, e esse estado pró-inflamatório e pró-oxidante é sistêmico (envolve múltiplos tecidos e órgãos) (BRILLA, 2012). Entretanto, os

mecanismos desses processos em humanos ainda não estão completamente elucidados.

1.3.1 Hanseníase e micronutrientes

Diversos estudos relataram redução e/ou alteração de micronutrientes em doenças crônicas, dentre elas a hanseníase (WANG e LIN, 2011; GEORGE et al., 1990; MATHUR et al., 1984; RAO et al., 1985). Isso porque o equilíbrio complexo de micronutrientes é fundamental para a manutenção da saúde, conseqüentemente a alteração da homeostase desses elementos pode gerar prejuízos da função celular, fisiológica e imune, sendo tais alterações associadas à causa ou conseqüência de inúmeras doenças (LIU et al., 2011).

Portanto, o estudo dos micronutrientes na hanseníase é importante e constitui um campo promissor. São remotos os trabalhos que avaliaram minerais traços em pacientes com a doença. Foram encontrados alguns estudos da década de 70, 80 e 90 cujos autores avaliaram níveis séricos de diversos minerais, dentre eles o Se, Zn, Cu e Mg (FOSTER et al., 1991; RAO e SAHA, 1986; NIGAM et al., 1979; SINHA et al., 1978). Os autores observaram redução gradual ao longo do espectro, ou seja, do polo tuberculóide ao polo virchowiano, dos níveis séricos de Se, Zn e Mg (SHER et al., 1981; MANTHUR et al., 1984; SAXENA et al., 1988). Também foi observado aumento de Cu em todas as formas clínicas da hanseníase (GEORGE et al., 1990; RAO et al. 1985; SHER et al., 1981).

Segundo a literatura, as alterações de micronutrientes em pacientes com hanseníase não tem sido associadas à alimentação, uma vez que a redução de minerais ocorre de maneiras distintas nas diferentes formas clínicas da hanseníase (RAO e SAHA, 1986; MENNEN et al., 1993). Por outro lado, os estudos sugerem que essas alterações estejam relacionadas à carga bacilar, ou seja, quanto maior o número de bacilos, maiores as alterações (GEORGE et al., 1990; MANTHUR et al., 1984).

Algumas hipóteses tentam explicar a redução desses micronutrientes na doença, com atenção especial ao Zn e sua influência no sistema imunológico, que se baseia na supressão não específica da resposta imune mediada por células, possivelmente devido a prejuízos na função do timo e produção de células T (SAXENA et al., 1988). Sabe-se que a deficiência de Zn provoca atrofia dessa glândula em animais experimentais e diminuição do hormônio dependente de Zn por ela produzido em experimento com humanos (PRASAD et al., 2009). Outra hipótese seria a de que os bacilos do *M. leprae* sequestrariam minerais das células do hospedeiro para uso no próprio metabolismo, uma vez que já é conhecida participação de diversos minerais em diversas enzimas (JAIN et al., 1995; MANTHUR et al., 1984; MENNEN et al., 1993).

Já em relação ao Cu, tem sido observado aumento desse mineral em infecções agudas e crônicas (GEORGE et al., 1990) e que a deficiência de Zn (hipozincemia) leva ao aumento de Cu (hipercupremia) (RAO et al., 1985), uma vez que esses minerais são antagonistas, possivelmente por competirem pelo mesmo transportador de membrana da borda em escova no intestino (COSTA, 2008).

Quanto ao Mg e Se, as reais causas da redução dos níveis séricos na hanseníase é desconhecida (FOSTER et al., 1991; NIGAM et al., 1985). Entretanto, hoje em dia sabe-se da importante relação do Mg com o sistema imune (BRILLA, 2012; TAM et al., 2003) e do papel essencial do Se na defesa antioxidante contra o estresse oxidativo comum em doenças crônicas (PAPP et al., 2010). Jain et al. (1995) sugerem que uma das causas da hipercupremia, hipozincemia e hiperferremia é devido a liberação de interleucina-I produzida por células inflamatórias do hospedeiro.

Por ora, conclui-se que alterações importantes no status de micronutrientes de fato ocorrem na hanseníase, e há necessidade de maior investigação a respeito, ou seja, se estas

alterações estão relacionadas à causa ou consequência da doença (RAO et al., 1985). Desta forma, será possível um melhor entendimento das diferenças entre a população resistente e suscetível à hanseníase, e dentre os suscetíveis, as variações da resposta imune do hospedeiro que configuram as diferentes formas clínicas.

1.4 REFERÊNCIAS

- ABDEL-HAFEZ, H.Z.; MOHAMED, E.E.M.; ABD-ELGHANY, A.A. Tissue and blood superoxide dismutase activity and malondialdehyde level in leprosy. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v.24, n.6, p.704-708, 2009.
- ARAÚJO, M.G. Hanseníase no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36, n.3, p.373-382, 2003.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MININ, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: avaliação de marcadores. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v.33, n.2, p.111-128, 2008.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v.29, n.1, p.113-123, 2006.
- BHADWAT, V.R.; BORADE, V.B. Increased lipid peroxidation in lepromatous leprosy. **Indian Journal of Dermatology, Venereology & Leprology**, v.66, n.3, p.121-125, 2000.
- BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v.12, n.2, p.123-130, 1999.
- BONHAM, M.; O'CONNOR, J.M.; HANNIGAN, B.M.; STRAIN, J.J. The immune system as a physiological indicator of marginal copper status? **British Journal of Nutrition**,

v. 87, p.393-403, 2002.

BRASIL, Portal da Saúde. **Distribuição da Hanseníase no Brasil**. Disponível em:

<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/coef_prev_detec_geral_menor_15_hans_reg_br2011.pdf>. Acesso em: 26 de agosto de 2012.

BRASIL, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL, Departamento de Atenção Básica. **Guia para o controle da hanseníase**. Brasília: Ministério da Saúde, 2002.

BRENDSTRUP, P. Serum iron, total iron binding capacity and serum copper in acute and chronic infections. *Acta Medica Scandinavica*, v.145, p.315-325, 1953.

BRILLA, L.R. Magnesium Influence on Stress and Immune Function in Exercise. **Journal of Sports Medicine e Doping Studies**, v.2, n.3, p.1-3, 2012.

BÜHRER-SÉKULA, S. Sorologia PGL-I na hanseníase. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.41, n.2, p.3-5, 2008.

BRUNETTO, M.A.; GOMES, M.O.S.; JEREMIAS, J.T.; OLIVEIRA, L.D.; CARCIOFI, A.C. Imunonutrição: o papel da dieta no restabelecimento das defesas naturais. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.2, p.230-232, 2007.

CADENAS, E.; SIES, H. The lag phase. **Free Radical Research**, v.28, n.6, p.601-609, 1998.

CATANIA, A.S.; BARROS, C.R.; FERREIRA, S.R.G. Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.53, n.5, p.550-559, 2009.

CEMERSKI, S.; CANTAGREL, A.; MEERWIJK, J.P.M.; RAMAGNOLI, P. Reactive oxygen species differently affect T cell receptor-signaling pathways. **Journal of Biological Chemistry**, v.277, n.22, p.19585–19593, 2002.

- COSTA, N.M.B. **Minerais**. In: COSTA, N.M.B. e PELUZIO, M.C.G. *Nutrição Básica e Metabolismo*. Viçosa: UFV, 2008. p.263-359.
- EIDT, L.M. Breve história da hanseníase: sua expansão do mundo para as Américas, o Brasil e o Rio Grande do Sul e sua trajetória na saúde pública brasileira. **Revista Saúde e Sociedade**, v.13, n.2, p.76-88, 2004.
- EVANS, P.; HALLIWEL, B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. **British Journal of Nutrition**, v.85, p.67-74, 2001.
- FERREIRA, A.L.A & MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.43, n.1, p.61-68, 1997.
- FOSTER, R.; SANCHEZ, A.; FOULKES, J.; CAMERON, L.J. Profile of blood elements in leprosy patients. **Indian Journal of Leprosy**, v.63, n.1, p.12-33, 1991.
- FOSS, N.T. **Imunologia (Parte I)**. In: TALHARI, S. e NEVES, R.G. *Dermatologia Tropical - Hanseníase*. Manaus: Tropical, 1997. p. 93-96a.
- FOSS, N.T. Aspectos imunológicos da hanseníase. *Medicina, Ribeirão Preto, Simpósio: Hanseníase*, v.30, n.2, p.335-339, 1997b.
- FOSS, N. T. ; SOUZA, C. S.; GOULART, I. M. B.; GONÇALVES, H. S.; VIRMOND, M. C. L. **Hanseníase: Episódios Reacionais**. In: JATENE, F.B.; CUTAIT, R.; NOBRE, M.R.C.; BERNARDO, W.M. (Org.). *Projeto Diretrizes - Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina*. Brasília-DF:, 2003, v. III, p. 161-179.
- FROTA, C.C.; FREITAS, M.V.C.; FOSS, N.T.; LIMA, L.N.C.; RODRIGUES, L.C.; BARRETO, M.L.; KERR, L.R.S. Seropositivity to anti-phenolic glycolipid-I in leprosy cases, contacts and no known contacts of leprosy in an endemic and a non-endemic area in northeast Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical**

- Medicine and Hygiene**, v.104, n.7, p.490-495, 2010.
- GARBINO; J.A.; NERY, J.A.; VIRMOND, M.; STUMP, P.R.N.; BACCARELLI, R.; MARQUES, Jr. W. **Hanseníase: Diagnóstico e Tratamento da Neuropatia**. In: JATENE, F.B.; CUTAIT, R.; NOBRE, M.R.C.; BERNARDO, W.M. (Org.). Projeto Diretrizes - Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. Brasília-DF, 2003, p.1-13, 2003.
- GIRISH, S. Role of antioxidant vitamins in immune function in leprosy. **International Journal of Comprehensive Pharmacy**, v.2, n.8, p.1-3, 2011.
- GEORGE, J.; BHATIA, V.N.; BALAKRISHNAN, S.; RAMU, G. Serum zinc/copper ratio in subtypes of leprosy and effect of oral zinc therapy on reactional states. **International Journal of Leprosy**, v.59, n.1, p.20-24, 1990.
- GEY, K.F. Vitamins E plus C and interacting conutrients required for optimal health. **Biofactors**, v.7, n.1/2, p.113-174, 1998.
- GOMES, F.G.; FRADE, M.A.C.; FOSS, N.T. Úlceras cutâneas na hanseníase: perfil clínico-epidemiológico dos pacientes. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.82, n.5, p.433-437, 2007.
- GOMES, M.M.; SAUNDERS C.; ACCIOLY E. Papel da vitamina A na prevenção do estresse oxidativo em recém-nascidos. **Revista Brasileira de Saúde Materno-Infantil**, v.5, n.3, p.275-282, 2005.
- GOULART, I.M.B.; ARBEX, G.L.; CARNEIRO, M.H.; RODRIGUES, M.S.; GADIA, R. Efeitos adversos da poliquimioterapia em pacientes com hanseníase: um levantamento de cinco anos em um Centro de Saúde da Universidade Federal de Uberlândia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.35, n.5, p.453-460, 2002.
- GROTTO, D.; SANTA MARIA, L. D.; BOEIRA, S.; VALENTINI, J.; CHARAO, M. F.;

- MORO, A. M.; NASCIMENTO, P. C.; POMBLUM, V. J.; GARCIA, S. C. Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography-visible detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.43, n.2, p.619-624, 2007.
- HERCBERG, S.; GALAN, P.; PREZIOSI, P.; ROUSSEL, A.M.; ARNAUD, J.; RICHARD, M.J.; MALVY, D.; PAULDAUPHIN, A.; BRIANCON, S.; FAVIER, A. Background and rationale behind the SU.VI.MAX Study, a prevention trial using nutritional doses of a combination of antioxidant vitamins and minerals to reduce cardiovascular diseases and cancers. Supplementation en Vitamines et Minéraux Antioxydants Study. **International Journal for Vitamins and Nutrition Research**, v.68, n.1, p.3-20, 1998.
- JACOB, R.A. The integrated antioxidant system. **Nutrition Research**, v.15, n.5, p.755-766, 1995.
- JAIN, A.; MUKHERJEE, A.; CHATTOPADHYA, D.; SAHA, K. Biometals in skin and sera of leprosy patients and their correlation to trace element contents of M. leprae and histological types of the disease; a comparative study with cutaneous tuberculosis. **International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases**, v.63, n.2, p.249-258, 1995.
- JYOTHI, P.; RIYAZ, N.; NANDAKUMAR, G.; BINITHA, M.P. A study of oxidative stress in paucibacillary and multibacillary leprosy. **Indian Journal of Dermatology, Venereology & Leprology**, v.74, n.1, p.80, 2008.
- LANA, F.C.F; AMARAL, E.P.; LANZA, F.M.; LIMA; P.L.; CARVALHO, A.C.N.; DINIZ, L.G. Hanseníase em menores de 15 anos no Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v.60, n.2, p.696-700, 2007.

- LIMA, E.S.; ROLAND, I.A.; MAROJA, M.F.; MARCON, J.L. Vitamin A and lipid peroxidation in patients with different forms of leprosy. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.49, n.4, p.211-214, 2007.
- LIU, B.Y.; BU, X.M.; WANG, G.Q. Trace elements analysis of urine and hair in tuberculous pleurisy. **Biological Trace Element Research**, v.143, p.1319-1324, 2011.
- LUSTOSA, A.A.; NOGUEIRA, L.T.; PEDROSA, J.I.S.; TELES, J.B.M.; CAMPELO, V. O impacto da hanseníase na qualidade de vida relacionada a saúde. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.44, n.5, p.621-626, 2011.
- MAFRA, D.; COZZOLINO, S.M.F. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista de Nutrição**, v.17, n.1, p.79-87, 2004.
- MANTHUR, N.K.; SHARMA, M.; MANGAL, H.N.; RAI, S.M.L. Serum zinc levels in subtypes of leprosy. **International journal of leprosy**, v.52, n.3, p.327-330, 1984.
- MAYNE, S. T. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. **Journal of Nutrition**, v.133, p.933-940, 2003.
- MACÊDO, E.M.C.; AMORIM, M.A.F.; SILVA, A.C.S.; CASTRO, C.M.M.B. Efeitos da deficiência de cobre, zinco e magnésio sobre o sistema imune de crianças com desnutrição grave. **Revista Paulista de Pediatria**, v.28, n.3, p.329-336, 2010.
- MECRURY, S.M.; GORDEN, D.; WILSON, R.; BRADLEY, H.; GEMMEL, C.G.; PATTERSON, J.R.; RUMALLY, A.G.; MACCUISH, A.C. A comparison of different methods of assaying free radical activity in type II diabetes and peripheral vascular disease. **Diabetic Medicine**, v.10, p.331-335, 1993.
- MENDONÇA, V.A.; COSTA, R.D.; MELO, G.E.B.A.; ANTUNES, C.M.; TEIXEIRA, A.L. Imunologia da hanseníase. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.83, n.4, p.343-350,

2008.

MENNEN, U.; HOWELLS, C.; WIESE, A.J. Serum zinc, sodium, calcium, magnesium and potassium levels and standard diet in leprosy patients. **Indian Journal of Leprosy**, v.65, n.4, p.415-421, 1993.

MILLER, D. M.; BUETTNER, G. R.; AUST, S. D. Transition metals as catalysts of “autoxidation” reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, v.8, p.95-108, 1990.

NIGAM, P.; MUKHIJA, R.D.; AGRAWAL, A.K.; SATI, T.R.; KAPOOR, K.K. Serum cations (calcium and magnesium) in leprosy. **Indian Journal of Leprosy**, v.57, n.3, p.529-533, 1985.

NIGAM, P.; DAYAL, S.G.; SRIWASTAVA, P.; JOSHI, L.D. Serum calcium and magnesium in leprosy. **Asian Journal of Infectious Diseases**, v.3, n.2, p.81-83, 1979.

NIKI, E.; NOGUSHI, N.; TSUCHIHASHI, H.; GOTOH, N. Interaction among vitamin C, vitamin E, and β -carotene. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.62, n.6, p.1322-1326, 1995.

PALÁCIOS, V.R.C.M.; DIAS, R.S.; NEVES, D.C.O. Estudo da situação da hanseníase no estado do pará. **Revista Paraense de Medicina**, v.24, n.2, p.49-56, 2010.

PAIVA, S.A.R. & RUSSEL, R.M. β -carotene and others carotenoids as antioxidants. **Journal of the American College of Nutrition**, v.18, n.5, p.426-433, 1999.

PAPP, L.V.; HOLMGREN, A.; KHANNA, K.K. Selenium and selenoproteins in health and disease. **Antioxidants e Redox Signaling**, v.12, n.7, p.793-795, 2010.

PEDROSA, L.F.C.; COZZOLINO, S.M.F. Alterações metabólicas e funcionais do cobre em *diabetes mellitus*. **Revista de Nutrição**, v.12, n.3, p.213-224, 1999.

PRASAD, A. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. **Current Opinion in Clinical Nutrition e Metabolic Care**, v.12, p.646-652, 2009.

- PRASAD, C.V.B; KODLIWADMATH, M.V.; KODLIWADMATH, G.B. Erythrocyte glutathione peroxidase, glutathione reductase activities and blood glutathione content in leprosy. **Journal of Infection**, v.56, p.469-473, 2008.
- PRASAD, C.V.B; KODLIWADMATH, M.V.; KODLIWADMATH, G.B. Erythrocyte superoxide dismutase, catalase activities and hydrogen peroxide induced lipid peroxidation in leprosy. **Leprosy Review**, v.78, p.391-397, 2007.
- PREVEDELLO, F.C.; MIRA, M.T. Hanseníase: uma doença genética? **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.82, n.5, p.451-459, 2007.
- RAO, K.N.; GUPTA, J.D.; SEHGAL, V.N.; CHAKRABARTI, A.K.; SAHA, K. Trace elements in the sera of leprosy spectrum. **Indian Journal of Leprosy**, v.57, n.3, p.556-561, 1985.
- RAO, K.N.; SAHA, K. Undernutrition in lepromatous leprosy, Part II. Altered levels of serum elements. Their association with the disease and not with food deprivation. **Leprosy Review**, v.57, n.4, p.311-316, 1986.
- RAO, K.N. & SAHA, K. Undernutrition and lepromatous leprosy. Serum vitamin A and E levels in leprosy spectrum. **Indian Journal of Leprosy**, v.60, n.1, p.66-70, 1988.
- REDDY, Y.N.; MURTHY, S.V.; KRISHNA, D.R.; PRABHAKAR, M.C. Oxidative stress and anti-oxidant status in leprosy patients. **Indian Journal of Leprosy**, v.75, n.4, p.307-316, 2003.
- RIDLEY ,D.S.; JOPLING, W.H. Classification of leprosy according to immunity: a five-group system. **International Journal of Leprosy and Other Mycobacterial Diseases**, v.34, p.255-273, 1966.
- RIMOLI, L.F. **Efetividade da vitamina E na redução do estresse oxidativo em hansenianos da forma multibacilar sob tratamento**. 2006. 89f. Tese (Doutorado em

Ciências da Saúde, Eixo Temático: Medicina Interna) - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP, São José do Rio Preto, 2006.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Brazil: a bounty of carotenoid source. **Sight and Life Newsletter**, v.4, p.3-9, 2002.

RONSEIN, G.E.; MIYAMOTO S.; BECHARA, E.; MASCIO, P. Oxidação de proteínas por oxigênio singlete: mecanismos de dano, estratégias para detecção e implicações biológicas. **Química Nova**, v.29, n.3, p.563-568, 2006.

ROVER JÚNIOR, L.; HÖEHR, N.F.; VELLASCO, A.P.; KUBOTA, L.T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathione associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, n.1, p.112-119, 2001.

SAXENA, N.; SHARMA, R.P.; SINGH, V.S. Study of serum zinc level in leprosy. **Indian Journal of Leprosy**, v. 60, n.4, p.556-561, 1988.

SCHON, T.; HERNANDEZ-PANDO, R.; BAQUERA-HEREDIA, J.; NEGESSE, Y.; BECERRIL-VILLANUEVA, L.E.; EON-CONTRERAS, J.C.; SUNDQVIST, T.; BRITTON, S. Nitrotyrosine localization to dermal nerves in borderline leprosy. **British Journal of Dermatology**, v.150, n.3, p.570-574, 2004.

SHER, R.; SHULMAN, G.; PATH, M.R.C.; BAILY, P.; POLITZER, W.M. Serum trace elements and vitamin A in leprosy subtypes. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.34, p.1918-1924, 1981.

SINHA, S.N.; GUPTA, S.C.; BISHI, D. Serum calcium and magnesium in different types of leprosy. **Leprosy in India**, v.50, n.1, p.54-56, 1978.

SOUZA, C.S. Hanseníase: formas clínicas e diagnóstico diferencial. **Medicina, Ribeirão Preto, Simpósio: Hanseníase**, v.30, n.1, p.324-335, 1997.

- TAM, M.; GOMEZ, S.; GONZALEZ-GROSS, M.; MARCOS, A. Possible roles of magnesium on the immune system. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.57, p.1193-1197, 2003.
- TALHARI, S.; NEVES, R.G. **Introdução, agente etiológico, transmissão, cultura, inoculação, aspectos laboratoriais, patogenia e classificação.** In: TALHARI, S. & NEVES, R.G. *Dermatologia Tropical - Hanseníase*. Manaus: Tropical, 1997. p. 1-3.
- TINGGI, U. Selenium: its role as antioxidant in human health. **Environmental Health and Preventive Medicine**, v.13, n.2, p.102-108, 2008.
- VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.39, n.1, p.44-84, 2006.
- VALKO, M.; MORRIS, H.; CRONIN, M.T.D. Metals, toxicity and oxidative stress. **Current Medicinal Chemistry**, v.12, n.10, p.1161-1208, 2005.
- VASCONSELOS, S.M.L.; GOULART, M.O.F.; MOURA, J.B.F.; MANFREDINI, V.L.; BENFATO, M.S.; KUBOTA, L.T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v.30, n.5, p.1323-1338, 2007.
- VINCENT, H. K.; INNES, K. E.; VINCENT, K.R. Oxidative stress and potential interventionsto reduce oxidative stress in overweight and obesity. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v.9, n.6, p.813-839, 2007.
- VIJAYARAGHAVAN, R.; SURIBABU, C.S.; SEKAR, B.; OOMMEN, P.K.; KAVITHALAKSHMI, S.N.; MADHUSUDHANAN, N.; PANNEERSELVAM C. Protective role of vitamin E on the oxidative stress in Hansen's disease (Leprosy) patients. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.59, p.1121-1128, 2005.

- WALSH, D.S.; LANE, J.E.; ABALOS, R.M.; MYINT, K.S. TUNEL and limited immunophenotypic analysis of apoptosis in paucibacillary and multibacillary leprosy lesions. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v.41, n.3, p.265-269, 2004.
- WANG, G.Q.; LIN, M.Y. Serum trace element levels in tuberculous pleurisy. **Biological Trace Element Research**, v.141, p.86-90, 2011.
- WITKOWSKI, M.; HUBERT, J.; MAZUR, A. Methods of assessment of magnesium status in humans: a systematic review. **Magnesium Research**, v.24, n.4, p.163-180, 2011.
- WHO, *World Health Organization*. Leprosy update 2011. **Weekly epidemiological record**, n. 86, p.389-400, 2011.
- WHO, *World Health Organization*. Leprosy elimination. **Programmes and projects**, 2012.
Disponível em: <<http://www.who.int/lep/en/>> Acesso em: 22 de maio de 2012.

Capítulo 2

ESTRESSE OXIDATIVO E MICRONUTRIENTES NA HANSENÍASE: AUSÊNCIA DE RELAÇÃO COM APGL1

Autores: Fabiana Maciel de Oliveira¹, Fernando Barbosa Júnior², Alceu Afonso Jordão Júnior³, Norma Tiraboschi Foss⁴, Marco Andrey Cipriani Frade⁴, Anderson Marliere Navarro^{1,3}

Afiliação:

¹Departamento de Alimentos e Nutrição - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista – FCFAR/ UNESP

²Departamento de Toxicologia e Essencialidade de Metais - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – FCFRP/ USP

³Departamento de Clínica Médica – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – FMRP/USP

⁴Divisão de Dermatologia – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – FMRP/USP

Resumo

O estresse oxidativo aliado a depleção antioxidante e de micronutrientes é uma condição metabólica observada na hanseníase. O estudo desses mecanismos nas populações com e sem a doença é importante, pois permite traçar hipóteses que estejam associadas à suscetibilidade/resistência a hanseníase e a alterações bioquímicas e nutricionais observadas nesses pacientes. Analisaram-se 62 amostras de soro de pacientes com hanseníase nas formas multibacilar (MB) e paucibacilar (PB) e 30 amostras controles. O marcador de peroxidação lipídica TBARS e vitamina E foram superior ($p < 0,001$) e inferior ($p < 0,001$), respectivamente, no grupo com hanseníase quando comparado ao grupo controle. A glutathiona reduzida (GSH) foi superior no grupo controle em relação ao grupo com hanseníase ($p = 0,012$) e MB ($p = 0,001$), no entanto, sem diferença do grupo PB ($p = 0,920$). Os pacientes apresentaram níveis séricos normais de selênio, zinco e cobre, e reduzido de magnésio, sendo todos muito deficientes. Não foi possível observar correlação do anticorpo glicolípido fenólico 1 com as demais variáveis nesse estudo. O aumento do estresse oxidativo e depleção antioxidante parecem estar associados à consequência da doença. O grupo PB parece possuir maior defesa de GSH em relação ao MB e semelhantes à de indivíduos sem a doença. Baixos níveis de magnésio observados em todos os pacientes sugere uma possível deficiência crônica desse micronutriente, o que pode ser atribuído a um dos vários fatores associados à suscetibilidade à hanseníase.

Palavras-chave: hanseníase, estresse oxidativo, antioxidantes, micronutrientes

Introdução

A hanseníase é uma doença infectocontagiosa, de evolução crônica, cujo agente etiológico é o bacilo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), microrganismo com tropismo para os nervos periféricos, de alta infectividade e baixa patogenicidade (Mendonça et al. 2008, Gomes et al. 2007).

Ainda é uma doença endêmica no Brasil, com prevalência de 1,54 casos por 10 mil habitantes, e apesar da redução de alguns indicadores observada nos últimos anos, o padrão espacial da hanseníase permanece o mesmo, persistindo regiões hiperendêmicas associadas à baixos índices de desenvolvimento humano (Brasil 2012).

O diagnóstico tardio e/ou manejo terapêutico inadequado podem levar ao surgimento sequelas e/ou incapacidade permanente, o que traz sérias consequências para o sistema previdenciário, uma vez que a doença atinge em sua maioria a faixa etária economicamente ativa da população.

Por isso, a constante vigilância para novos casos, em especial nos menores de 15 anos (utilizado como indicador de endemia), bem como acompanhamento daqueles já existentes são imprescindíveis.

Já é bem estabelecido na literatura que a maioria da população apresenta defesa natural contra o bacilo. Somente 5 a 10% irão desenvolver a doença de acordo o tipo e grau da resposta imune produzida pelo hospedeiro, o que reflete um amplo espectro de manifestações clínicas e imunopatológicas, variando do polo tuberculóide de alta resistência (resposta imune celular eficaz e conseqüente redução da disseminação bacilar e sorologia do anticorpo glicolípido fenólico 1 ou APGL1) ao polo virchowiano de alta suscetibilidade (resposta imune humoral ineficaz e conseqüente aumento da disseminação bacilar e sorologia do APGL1) (Talhari & Neves 1997, Foss 1997).

Sabe-se que o glicolípido fenólico 1 é um antígeno específico da parede do *M. leprae* e reflete claramente a carga bacilar. Por isso, o uso do APGL1 tem sido útil para diagnóstico nos multibacilares, ao passo que nos paucibacilares o nível desse anticorpo costuma ser muito baixo ou indetectável, semelhante à maioria da população não doente (Bührer-sékula 2008).

A *World Health Organization* propôs uma classificação de caráter simples e operacional a fim de expandir a campanha para eliminação da hanseníase, baseada na contagem do número de lesões de pele e nervos envolvidos, sendo agrupadas em paucibacilares (PB) quando apresentam de uma a cinco lesões e incluem as formas clínicas indeterminada e tuberculóide localizadas no polo tuberculóide, ou multibacilares (MB) quando apresentam mais de cinco lesões e incluem as formas clínicas dimorfa tuberculóide, dimorfa dimorfa, dimorfa virchowiana e virchowiana localizadas no polo virchowiano (WHO 2012, Mendonça et al. 2008).

A literatura relata estudos que avaliaram aumento do estresse oxidativo e redução de antioxidantes e micronutrientes na hanseníase, contudo, os mecanismos que explicam tais alterações e, principalmente, se elas estão associadas à causa ou consequência da doença, ainda permanecem desconhecidos. Uma vez elucidados esses mecanismos na população resistente e suscetível, e dentre os suscetíveis, nas diferentes formas clínicas da hanseníase, será possível traçar hipóteses que estejam associadas à suscetibilidade a hanseníase e às alterações bioquímicas e nutricionais observadas nesses pacientes.

A relação entre doença, nutrição e imunidade, ainda que não elucidada completamente, é verificada em muitos estudos que mostraram um aumento do catabolismo frente a uma doença, o que leva a um aumento das necessidades nutricionais visando assegurar eficiência da resposta imune, sendo esta dependente de uma elevada taxa de replicação celular e síntese de compostos proteicos ativos (Brunetto et al. 2007, Araújo 2003).

O presente estudo teve por objetivo quantificar marcador de estresse oxidativo, antioxidantes e micronutrientes presentes no soro de pacientes portadores de hanseníase, a fim de avaliar a influência dessas variáveis na suscetibilidade e patogenia da doença, incluindo a relação das mesmas com a sorologia do APGL1.

Material e métodos

Trata-se de um estudo observacional do tipo transversal. O protocolo do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital das Clínicas (HC) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (Of. Ref. N° 4365/2011).

Descrição das amostras

O grupo com a doença correspondeu a 62 pacientes portadores de hanseníase, usuários do Ambulatório de Hanseníase da Dermatologia do HC de Ribeirão Preto. Os critérios de inclusão foram idade adulta (≥ 19 e < 60 anos), diagnóstico confirmado para hanseníase, ausência de co-morbidade e não estar em uso do tratamento poliquimioterápico (casos novos ou de reinfecção). Em virtude da não existência de valores de referência para marcadores de estresse oxidativo, foi selecionado um grupo controle composto por 30 indivíduos adultos e saudáveis.

No estudo de avaliação do estresse oxidativo, foram dosados sorologicamente o marcador de peroxidação lipídica malondialdeído (MDA) e antioxidantes glutathiona reduzida (GSH) e vitamina E nos grupos com hanseníase e controle. Quanto aos micronutrientes, foram dosados os minerais selênio (Se), zinco (Zn), cobre (Cu) e magnésio (Mg) no grupo com hanseníase e comparados segundo valores de referências da literatura.

Análises laboratoriais

O MDA foi quantificado pelo método TBARS ou teste de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (Buege & Aust 1978).

A GSH foi quantificada pelo método baseado na quantificação de tiol solúvel em ácido que é lido em espectrofotômetro no comprimento de onda de 640 nm (Sedlack & Lindsay 1968).

A vitamina E foi dosada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em coluna tipo C-18 (Shimpack CLC-ODS 4,6 x 25 cm), pré-coluna 4 mm x 1 cm e fluxo de 2,0 mL/min (Arnaud et al 1991).

Os minerais Se, Zn, Cu e Mg foram dosados por meio de espectrometria de massa com fonte de plasma acoplado (ICP-MS) (Nunes 2009) e avaliados segundo valores de referência da literatura, sendo 0,44 – 1,16 $\mu\text{mol/L}$ para o Se; 10,4 – 22,8 $\mu\text{mol/L}$ para o Zn; 7,9 – 25,1 $\mu\text{mol/L}$ para o Cu (Rukgauer et al 1997) e 800 – 1200 $\mu\text{mol/L}$ para o Mg (Young 1987).

Análise estatística

Foi aplicado o teste não paramétrico *Mann-Whitney* para comparar as variáveis TBARS, GSH e vitamina E entre o grupo controle *versus* os grupos com hanseníase (total, multibacilar e paucibacilar), e dentre os doentes, entre o grupo multibacilar *versus* grupo paucibacilar. Teste de correlação *Pearson* foi realizado a fim de verificar associação do APGL1 com as demais variáveis quantificadas no estudo (TBARS, GSH, vitamina E, Se, Zn, Cu e Mg). As análises foram realizadas em programa estatístico utilizando-se $p < 0,05$ como critério de significância.

Resultados

Dos 62 pacientes incluídos no grupo com hanseníase, 74,2% (n=46) foram homens e 25,8% (n=16) mulheres, com média de idade igual a $45,2 \pm 9,7$ anos (21 – 59), sendo 71%

(n=44) multibacilares e 29% (n=18) paucibacilares. O grupo controle (n=30) apresentou média de idade igual a $24,7 \pm 4,3$ anos (20 – 43), sendo 43,3% (n=13) homens e 56,7% (n=17) mulheres.

Em relação ao AGPL1, o grupo controle apresentou valor médio ($0,5 \pm 0,2$) inferior ($p < 0,001$) ao grupo com hanseníase ($5,6 \pm 6,2$), e dentre os doentes, o grupo MB apresentou valor médio ($7,4 \pm 6,4$) superior ($p < 0,001$) ao grupo PB ($1,0 \pm 0,6$).

Os resultados de mediana, valor mínimo e máximo do TBARS, GSH e vitamina E quantificados nos grupos com hanseníase e controle estão descritos na Tabela 1.

O TBARS foi inferior ($p < 0,001$) no grupo controle quando comparado ao grupo com hanseníase, MB e PB. Da mesma forma, a vitamina E foi superior ($p < 0,001$) no grupo controle quando comparada a esses grupos. A GSH foi estatisticamente superior no grupo controle quando comparada aos grupos com hanseníase ($p = 0,012$) e MB ($p = 0,001$), no entanto, quando comparada ao grupo PB não houve diferença significativa ($p = 0,920$).

Dentre os doentes, não foi possível observar diferenças significativas entre o grupo MB e PB para as variáveis TBARS, GSH e vitamina E.

Na Tabela 2 encontram-se descritos os resultados de média e desvio-padrão dos minerais Se, Zn, Cu e Mg quantificados no grupo com hanseníase e a classificação dos pacientes em alterado e não alterado de acordo com valor sérico de referência para cada mineral.

Os pacientes com hanseníase apresentaram níveis séricos normais de Se, Zn e Cu, exceto por uma minoria (n=4 ou 14,3%) que apresentou alteração bioquímica de Cu acima da referência. Em relação ao Mg, todos os pacientes apresentam-se alterados (abaixo da referência), com um valor médio de $531,9 \pm 71,2$ $\mu\text{mol/L}$ bem abaixo do limite inferior de referência (800-1200 $\mu\text{mol/L}$).

Não foi possível observar correlação significativa do APGL1 com as variáveis de estresse oxidativo, antioxidantes e minerais quantificadas nesse estudo.

Discussão

O MDA, produto final estável do processo de peroxidação lipídica, é considerado um importante mediador de danos nos tecidos e encontra-se aumentado na hanseníase (Jyothi et al. 2008, Reddy et al. 2003, Bhadwat & Borade 2000), fenômeno esse corroborado no presente estudo que demonstrou aumento significativo dos níveis séricos de MDA nos doentes frente ao grupo controle, entretanto, sem detectar diferenças entre os grupos MB e PB.

Da mesma forma, a depleção da defesa antioxidante também foi constatada nesse e em outros estudos que mostraram níveis reduzidos de enzimas e moléculas antioxidantes na hanseníase (Abdel-Hafez et al. 2009, Prasad et al. 2007). Prasad et al. (2008) verificaram níveis reduzidos de GSH no sangue de pacientes com a doença em relação ao grupo controle, exceto para as formas tuberculóide e dimorfa tuberculóide. No presente estudo, o grupo PB apresentou GSH semelhante à de indivíduos saudáveis, ao passo que grupo MB apresentou-se deficiente, o que pode justificar o perfil de suscetibilidade desse grupo frente à disseminação da doença com alta carga bacilar.

A vitamina E, comumente representada pelo α -tocoferol, tem sido considerada um importante antioxidante protetor da bicamada lipídica das membranas celulares e das lipoproteínas de transporte (Barreiros et al. 2006). Redução dos níveis séricos dessa vitamina foi observada nos pacientes com hanseníase desse estudo, em comparação ao grupo controle, no entanto, não houve diferença significativa entre os grupos da doença. Esses resultados confirmam estudos da literatura que relataram redução dos níveis séricos de vitamina E em pacientes sem tratamento (Rao & Saha 1988) e em uso da PQT por 6 meses a 1 ano (Girish

2011). Segundo Girish (2011), além de antioxidante a vitamina E também exerce um papel protetor no sistema imune, o que pode ser uma boa medida de referência para avaliação do risco de infecção inicial.

Diversos estudos relataram redução e/ou alteração de micronutrientes em doenças crônicas, dentre elas a hanseníase (Wang & Lin 2011, George et al. 1990, Mathur et al. 1984, Rao et al. 1985). O equilíbrio complexo de micronutrientes é fundamental para a manutenção da saúde, conseqüentemente a alteração da homeostase desses elementos pode gerar prejuízos da função celular, fisiológica e imune, sendo tais alterações associadas à causa ou consequência de inúmeras doenças (Liu et al. 2011).

Embora muito antigos os estudos que avaliaram minerais na hanseníase, há evidências de que as alterações de micronutrientes não estejam associadas à alimentação, uma vez que elas seguem um mesmo padrão nas diferentes formas da doença (Rao & Saha 1986, Mennen et al. 1993). Os estudos sugerem que essas alterações estejam associadas à carga bacilar, ou seja, quanto maior o número de bacilos (formas clínicas do polo virchowiano), maiores as alterações (George et al. 1990, Manthur et al. 1984). No entanto, nesse estudo não foi possível observar associação de micronutrientes com a carga bacilar inferida pelo APGL1, assim como para as outras variáveis de estresse oxidativo e antioxidantes.

Uma das hipóteses que explica a alteração de micronutrientes na hanseníase é a de que os bacilos do *M. leprae* sequestrariam minerais das células do hospedeiro para uso no próprio metabolismo, uma vez que já é conhecida a participação cardinal dos minerais na atuação de inúmeras enzimas (Jain et al. 1995, Manthur et al. 1984, Mennen et al. 1993). Como consequência da diminuição da disponibilidade de minerais para o hospedeiro, as metaloenzimas, como por exemplo, a superóxido dismutase e glutathiona peroxidase, também seriam afetadas negativamente (Prasad et al. 2008). Segundo Jain et al. (1995), as alterações

de micronutrientes na hanseníase poderiam ser atribuídas à liberação de interleucina-I, produzida durante processo inflamatório, o que causaria aumento de Cu e redução de Zn e ferro no hospedeiro (Jain et al. 1995).

No presente estudo, todos pacientes com hanseníase apresentaram níveis séricos normais do mineral Se, segundo valor de referência. No entanto, esses resultados diferem de Foster et al. (1991), que analisaram 40 elementos traços em 14 pacientes com hanseníase e 5 indivíduos saudáveis, e foi observado redução de Se nos doentes. Vale destacar que uma das principais funções do Se está associada ao seu potencial antioxidante, uma vez que ele atua como cofator da glutathione peroxidase, considerada uma selenoproteína por conter selenocisteína (Se covalentemente ligado a um resíduo de cisteína) (Papp et al. 2010). Segundo Costa (2008), a atividade da glutathione peroxidase decresce na deficiência de Se, enquanto a suplementação com Se restabelece atividade normal da enzima (Costa 2008).

Os estudos também relataram deficiência de Zn que acompanha o caráter espectral da doença, ou seja, redução gradual do polo tuberculóide ao polo virchowiano, onde nesse atinge valores mínimos (Rao et al. 1985, Rao & Saha 1986, George et al. 1990, Mennen et al. 1993). No presente estudo, todos os pacientes apresentaram níveis séricos normais de Zn. No entanto, vale destacar que o nível plasmático desse mineral não é considerado um bom indicador do seu estado nutricional, uma vez que o organismo tenta manter valores normais durante a sua deficiência, ao passo que o Zn eritrocitário, por não refletir mudanças recentes, é considerado um indicador de prazo mais longo (Mafra e Cozzolino, 2004; Gibson, 1990).

A literatura também relata Cu aumentado em infecções agudas e crônicas, incluindo a hanseníase (George et al. 1990), e associa essa alteração à redução de Zn. Ou seja, a deficiência de Zn (hipozincemia) leva ao aumento de Cu (hipercupremia) (Rao et al. 1985), uma vez que esses minerais são antagonistas, possivelmente por competirem pelo mesmo

transportador de membrana da borda em escova no intestino (Costa 2008). Além disso, os estudos relataram que o aumento de Cu em pacientes com hanseníase é crescente ao longo do espectro, ou seja, do polo tuberculóide ao polo virchowiano (Sher et al. 1981, Rao et al. 1985, George et al. 1990). No entanto, no presente estudo a maioria dos pacientes com hanseníase apresentou níveis séricos de Cu normais, sendo somente quatro pacientes multibacilares com níveis aumentados desse mineral.

Um importante achado desse estudo foi que todos os pacientes com hanseníase apresentaram níveis de Mg muito abaixo do limite inferior de referência, indicando uma possível deficiência crônica desse micronutriente na doença. Outros estudos também relataram redução dos níveis de Mg em pacientes com hanseníase, contudo, a causa dessa alteração permanece desconhecida (Rao et al. 1985, Nigam et al. 1985, Foster et al. 1991). Felizmente, hoje em dia os estudos avançaram em relação ao papel do Mg e revelaram uma forte relação do mesmo com a inflamação e resposta imune não específica (inata) e específica (adquirida) (Tam et al. 2003). Os resultados de experimentos com animais corroboram com os estudos com humanos, mostrando que a deficiência de Mg produz uma síndrome inflamatória com leucócitos e ativação de macrófagos, liberação de citocinas e produção excessiva de radicais livres, e ainda esse estado pró-inflamatório e pró-oxidante é sistêmico e envolve múltiplos tecidos e órgãos (Macêdo et al. 2010, Brilla 2012), o que por sua vez gera estresse oxidativo, depleção antioxidante e danos nos nervos periféricos na hanseníase. Entretanto, o mecanismo do papel do Mg no sistema imune em seres humanos ainda não está completamente elucidado, mas o presente estudo sugere que a deficiência desse mineral na hanseníase pode estar envolvida na suscetibilidade do indivíduo em adquirir a doença. Segundo Foster et al. (1991), há dados consistentes na literatura sobre o envolvimento metabólico e nutricional na etiologia da hanseníase.

Portanto, conclui-se que o aumento do estresse oxidativo e depleção antioxidante na hanseníase parecem estar associados à consequência da doença, relacionada ao desencadeamento da resposta imune do hospedeiro frente à infecção pelo *M. leprae*. Os pacientes paucibacilares parecem possuir maior defesa antioxidante de GSH em relação aos multibacilares, sendo os níveis encontrados dessa molécula semelhantes aos de indivíduos sem a doença (grupo controle). Destaca-se que baixos níveis de Mg observados em todos os pacientes com hanseníase sugerem uma possível deficiência crônica desse micronutriente e que pode ser atribuída a um dos vários fatores associados à suscetibilidade dos indivíduos em adquirir a doença.

Referências

- Abdel-Hafez HZ, Mohamed EEM, Abd-Elghany AA 2009. Tissue and blood superoxide dismutase activity and malondialdehyde level in leprosy. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 24: 704-708.
- Araújo MG 2003. Hanseníase no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 373-382.
- Arnaud J, Fortis I, Blachier S, Kia D, Favier A 1991. Simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 572: 103-116.
- Barreiros ALBS, David JM, David JP 2006. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova* 29: 113-123.
- Bhadwat VR, Borade VB 2000. Increased lipid peroxidation in lepromatous leprosy. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 66: 121-125.
- Buege JA, Aust SD 1978 Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 52: 302-310.
- Bührer-Sékula S 2008. Sorologia PGL-I na hanseníase. *Rev Soc Bras Med Trop* 41: 3-5.

- Brasil, Portal da Saúde. *Distribuição da Hanseníase no Brasil* [acesso 26 Ago 2012; citado 18 Out 2012]. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/coef_prev_detec_geral_menor_15_hans_reg_br2011.pdf
- Brilla LR 2012. Magnesium influence on stress and immune function in exercise. *J Sports Med Doping Stud* 2: 1-3.
- Brunetto MA, Gomes MOS, Jeremias JT, Oliveira LD, Carciofi AC 2007. Imunonutrição: o papel da dieta no restabelecimento das defesas naturais. *Acta Sci Vet* 35: 230-232.
- Costa NMB 2008. *Minerais*. In NMB COSTA, MCG PELUZIO. *Nutrição Básica e Metabolismo*, UFV, Viçosa, 263-359.
- Foss NT 1997. *Aspectos imunológicos da hanseníase*. Simpósio Medicina Hanseníase, Ribeirão Preto, 30: 335-339.
- Foss NT, Souza CS, Goulart IMB, Gonçalves HS, Virmond MC 2003. *Hanseníase: Episódios Reacionais*. In FB Jatene, R Cutait, MRC Nobre, WM Bernardo (Org.). Projeto Diretrizes Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, Brasília, p. 161-179.
- Foster R, Sanchez A, Foulkes J, Cameron LJ 1991. Profile of blood elements in leprosy patients. *Indian J Lepr* 63: 12-33.
- Frota CC, Freitas MVC, Foss NT, Lima LNC, Rodrigues LC, Barreto ML, Kerr LRS 2010. Seropositivity to anti-phenolic glycolipid-I in leprosy cases, contacts and no known contacts of leprosy in an endemic and a non-endemic area in northeast Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 104: 490-495.
- George J, Bhatia VN, Balakrishnan S, Ramu G 1990. Serum zinc/copper ratio in subtypes of leprosy and effect of oral zinc therapy on reactional states. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 59: 20-24.

- Gibson RS 1990. *Principles of nutritional assessment*, 2^a ed., Oxford University, New York, 928 pp.
- Girish S 2011. Role of antioxidant vitamins in immune function in leprosy. *Inter J Compre Pharm* 2: 1-3.
- Gomes FG, Frade MAC, Foss NT 2007. Úlceras cutâneas na hanseníase: perfil clínico-epidemiológico dos pacientes. *An Bras Dermatol* 82: 433-437.
- Jain A, Mukherjee A, Chattopadhyaya D, Saha K 1995. Biometals in skin and sera of leprosy patients and their correlation to trace element contents of *M. leprae* and histological types of the disease; a comparative study with cutaneous tuberculosis. *Inter J Lepr Other Mycobact Dis* 63: 249-258.
- Jyothi P, Riyaz N, Nandakumar G, Binitha MP 2008. A study of oxidative stress in paucibacillary and multibacillary leprosy. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 74: 80.
- Lana FCF, Amaral EP, Lanza FM, Lima PL, Carvalho ACN, Diniz LG 2007. Hanseníase em menores de 15 anos no Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. *Rev Bras Enferm* 60: 696-700.
- Liu BY, Bu XM, Wang GQ 2011. Trace elements analysis of urine and hair in tuberculous pleurisy. *Biol Trace Elem Res* 143: 1319-1324.
- Mafra D, Cozzolino SMF 2004. Importância do zinco na nutrição humana. *Rev Nutr* 17: 79-87.
- Manthur NK, Sharma M, Mangal HN, Rai SML 1984. Serum zinc levels in subtypes of leprosy. *Inter J Lepr* 52: 327-330.
- Macêdo EMC, Amorim MAF, Silva ACS, Castro CMMB 2010. Efeitos da deficiência de cobre, zinco e magnésio sobre o sistema imune de crianças com desnutrição grave. *Rev Paul Ped* 28: 329-336.

- Mennen U, Howells C, Wiese AJ 1993. Serum zinc, sodium, calcium, magnesium and potassium levels and standard diet in leprosy patients. *Indian J Lepr* 65: 415-421.
- Mendonça VA, Costa RD, Melo GEBA, Antunes CM, Teixeira AL 2008. Imunologia da hanseníase. *An Bras Derm* 83: 343-350.
- Nigam P, Mukhija RD, Agrawal AK, Sati TR, Kapoor KK 1985. Serum cations (calcium and magnesium) in leprosy. *Indian J Lepr* 57: 529-533.
- Nunes JA 2009. *Desenvolvimento de método para determinação de Ag, As, Cd, Co, Mn, Ni, Pb e Se em sangue por espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) utilizando diluição das amostras em meio alcalino*, PhD Thesis, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 94 pp.
- Papp LV, Holmgren A, Khanna KK 2010. Selenium and selenoproteins in health and disease. *Antioxid Redox Signal* 12: 793-795.
- Palácios VRCM, Dias RS, Neves, DCO 2010. Estudo da situação da hanseníase no estado do Pará. *Rev Para Med* 24: 49-56.
- Prasad AS 2009. Clinical, immunological, anti-inflammatory and antioxidant roles of zinc. *Exp Gerontol* 43: 370-377.
- Prasad CVB, Kodliwadmth MV, Kodliwadmth GB 2008. Erythrocyte glutathione peroxidase, glutathione reductase activities and blood glutathione content in leprosy. *J Infect* 56: 469-473.
- Prasad CVB, Kodliwadmth MV, Kodliwadmth GB 2007. Erythrocyte superoxide dismutase, catalase activities and hydrogen peroxide induced lipid peroxidation in leprosy. *Lepr Rev* 78: 391-397.
- Rao KN, Gupta JD, Sehgal VN, Chakrabarti AK, Saha K 1985. Trace elements in the sera of leprosy spectrum. *Indian J Lepr* 57: 556-561.

- Rao KN, Saha K 1986. Undernutrition in lepromatous leprosy, Part II. Altered levels of serum elements. Their association with the disease and not with food deprivation. *Lepr Rev* 57: 311-316.
- Rao KN, Saha K 1988. Undernutrition and lepromatous leprosy. Serum vitamin A and E levels in leprosy spectrum. *Indian J Lep* 60: 66-70.
- Rimoli LF 2006. *Efetividade da vitamina E na redução do estresse oxidativo em hansenianos da forma multibacilar sob tratamento*, PhD Thesis, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, 89 pp.
- Reddy YN, Murthy SV, Krishna DR, Prabhakar MC 2003. Oxidative stress and anti-oxidant status in leprosy patients. *Indian J Lepr* 75: 307-316.
- Rukgauer M, Klein J, Kruse-Jarres JD 1997. Reference values for the trace elements copper, manganese, selenium, and zinc in the serum/plasma of children, adolescents and adults. *J Trace Elem Med Biol* 11: 92-98.
- Saxena N, Sharma RP, Singh VS 1988. Study of serum zinc level in leprosy. *Indian J Lepr* 60: 556-561.
- Sher R, Shulman G, Path MRC, Baily P, Politzer WM 1981. Serum trace elements and vitamin A in leprosy subtypes. *Am J Clin Nutr* 34: 1918-1924.
- Sedlak J, Lindsay RH 1968. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 25: 192-205.
- Tam M, Gomez S, Gonzalez-Gross M, Marcos A. Possible roles of magnesium on the immune system. *Eur J Clin Nutr* 57: 1193-1197.
- Talhari S, Neves RG 1997. *Introdução, agente etiológico, transmissão, cultura, inoculação, aspectos laboratoriais, patogenia e classificação*. In S Talhari, RG Neves, *Dermatologia Tropical Hanseníase, Tropical, Manaus*, p. 1-3.

- Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF, Manfredini VL, Benfato MS, Kubota LT 2007. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quim Nova* 30: 1323-1338.
- Vijayaraghavan R, Suribabu CS, Sekar B, Oommen PK, Kavithalakshmi SN, Madhusudhanan N, Panneerselvam C 2005. Protective role of vitamin E on the oxidative stress in Hansen's disease (Leprosy) patients. *Eur J Clin Nutr* 59: 1121-1128.
- Young DS 1987. Implementation of SI units for clinical laboratory data: style specifications and conversion tables. *Ann Intern Med* 106: 10-35.
- Wang GQ, Lin MY 2011. Serum trace element levels in tuberculous pleurisy. *Biol Trace Elem Res* 141: 86-90.
- World Health Organization 2011. *Leprosy update: Weekly epidemiological record*, 86: 389-400.
- World Health Organization. *Programmes and projects* [acesso 22 Mai 2012; citado 10 Ago 2012]. Disponível em: <http://www.who.int/lep/en/>

Tabelas

Tabela 1. Número amostral (n), mediana (Md) e valores mínimo e máximo (min – max) do TBARS, glutatona reduzida (GSH) e vitamina E, por forma clínica da hanseníase e grupo controle.

Grupos	Valores em $\mu\text{mol/L}$: Md; min – max					
	n	TBARS	n	GSH	n	Vitamina E
Controle	30	5,9; 2,0–13,5	30	374,5; 214,5–807,0	30	13,9; 8,5–24,8
Hanseníase	40	13,8; 5,9–33,3	52	318,9; 145,9–629,5	38	3,9; 1,1–11,3
Valor de p*		<0,001		0,012		<0,001
Multibacilar	26	13,5; 5,9–22,8	38	312,1; 145,9–564,5	32	3,9; 1,11–11,3
Valor de p*		<0,001		0,001		<0,001
Paucibacilar	14	14,7; 9,2–33,3	14	392,0; 174,5–629,5	6	4,6; 1,3–7,0
Valor de p*		<0,001		0,977		<0,001
Valor de p ^δ		0,495		0,063		0,920

* Comparação do grupo controle *versus* grupos com hanseníase, multibacilar e paucibacilar.

^δ Comparação do grupo multibacilar *versus* grupo paucibacilar.

Tabela 2. Média e desvio-padrão (DP) do selênio, zinco, cobre e magnésio e número (%) de pacientes alterados e não alterados de acordo com valor sérico de referência para cada mineral.

Grupo com hanseníase n=28	Valor sérico de referência (VR) dos minerais em $\mu\text{mol/L}$			
	Selênio	Zinco	Cobre	Magnésio
	VR: 0,44 – 1,16	VR: 10,4 – 22,8	VR: 7,9 – 25,1	VR: 800 – 1200
Média \pm DP ($\mu\text{mol/L}$)	0,73 \pm 0,17	15,65 \pm 2,0	20,6 \pm 3,6	531,9 \pm 71,2
Alterado: n (%)	-	-	4 (14,3)	28 (100)
Não alterado: n (%)	28 (100)	28 (100)	24 (85,7)	-

ANEXO A



www.hcrp.usp.br



Ribeirão Preto, 22 de junho de 2011

Ofício nº 2208/2011
CEP/MGV

Prezados Senhores,

O trabalho intitulado **"ESTRESSE OXIDATIVO EM HANSENÍASE: UMA PROPOSTA DE INVESTIGAÇÃO"** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 326ª Reunião Ordinária realizada em 20/06/2011 e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 4365/2011.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (ICH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

De acordo com Carta Circular nº 003/2011/CONEP/CNS datada de 21 de março de 2011, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE - apondo sua assinatura na última página do referido Termo; o pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE - apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Atenciosamente,

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores
PROF. DR. ANDERSON MARLIERE NAVARRO
FABIANA MACIEL OLIVEIRA (Mestranda)
Depto. de Clínica Médica

Comitê de Ética em Pesquisa HCRP e FMRP-USP - Campus Universitário
FWA - 0000 2733; IRB - 0000 2186 e Registro SISNEP/CONEP nº 4
Fone (16) 3602-2228 - E-mail : cep@hcrp.usp.br
Monte Alegre 14048-900 Ribeirão Preto SP

ANEXO B



Memórias do Instituto
Oswaldo Cruz

[Edit Account](#) | [Instructions & Forms](#) | [Log Out](#) | [Get Help Now](#)

SCHOLARONE™
Manuscripts

[Main Menu](#) → [Author Dashboard](#) → Submission Confirmation

You are logged in as Fabiana Oliveira

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*.

Manuscript ID: MIOC-2012-0628

Title: Estresse oxidativo e micronutrientes em pacientes com hanseníase: ausência de relação com APGLI

Authors: Oliveira, Fabiana
Barbosa Júnior, Fernando
Jordão Júnior, Alceu
Foss, Norma
Navarro, Anderson
Frade, Marco Andrey

Date Submitted: 01-Nov-2012



Print



Return to Dashboard

ScholarOne Manuscripts™ v4.10.0 (patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2012. All Rights Reserved.
ScholarOne Manuscripts is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.



Follow ScholarOne on Twitter

[Terms and Conditions of Use](#) - [ScholarOne Privacy Policy](#) - [Get Help Now](#)