



ARTIGO ORIGINAL

Erythrocyte oxidative stress markers in children with sickle cell disease[☆]



Priscila Bacarin Hermann^{a,*}, Mara Albonei Dudeque Pianovski^b,
Railson Henneberg^a, Aguinaldo José Nascimento^a e Maria Suely Soares Leonart^a

^a Departamento de Análise Clínica, Laboratório Clínico, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^b Departamento de Hematologia e Oncologia Pediátrica, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

Recebido em 6 de julho de 2015; aceito em 16 de outubro de 2015

KEYWORDS

Oxidative stress;
Sickle cell disease;
Children

Abstract

Objective: To determine eight parameters of oxidative stress markers in erythrocytes from children with sickle cell disease and compare with the same parameters in erythrocytes from healthy children, since oxidative stress plays an important role in the pathophysiology of sickle cell disease and because this disease is a serious public health problem in many countries.

Methods: Blood samples were obtained from 45 children with sickle cell disease (21 males and 24 females with a mean age of 9 years; range: 3–13 years) and 280 blood samples were obtained from children without hemoglobinopathies (137 males and 143 females with a mean age of 10 years; range: 8–11 years), as a control group. All blood samples were analyzed for methemoglobin, reduced glutathione, thiobarbituric acid reactive substances, percentage of hemolysis, reactive oxygen species, and activity of the enzymes glucose 6-phosphate dehydrogenase, superoxide dismutase, and catalase. Data were analyzed using Student's *t*-test and were expressed as the mean $\pm$ standard deviation. A *p*-value of <0.05 was considered significant.

Results: Significant differences were observed between children with sickle cell disease and the control group for the parameters methemoglobin, thiobarbituric acid reactive substances, hemolysis, glucose 6-phosphate dehydrogenase activity, and reactive oxygen species, with higher levels in the patients than in the controls.

Conclusions: Oxidative stress parameters in children's erythrocytes were determined using simple laboratory methods with small volumes of blood; these biomarkers can be useful to evaluate disease progression and outcomes in patients.

© 2016 Sociedade Brasileira de Pediatria. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

DOI se refere ao artigo:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2015.10.004>

[☆] Como citar este artigo: Hermann PB, Pianovski MA, Henneberg R, Nascimento AJ, Leonart MS. Erythrocyte oxidative stress markers in children with sickle cell disease. J Pediatr (Rio J). 2016;92:394–9.

* Autor para correspondência.

E-mail: prihermann@hotmail.com (P.B. Hermann).

PALAVRAS-CHAVE

Estresse oxidativo;
Doença falciforme;
Crianças

Marcadores de estresse oxidativo em eritrócitos de crianças com doença falciforme**Resumo**

Objetivo: Determinar parâmetros de estresse oxidativo em eritrócitos de crianças com doença falciforme e compará-los com os mesmos parâmetros em eritrócitos de crianças saudáveis, pois o estresse oxidativo desempenha um importante papel na fisiopatologia da doença falciforme, considerada um sério problema de saúde pública em muitos países.

Métodos: Foram obtidas amostras de sangue de 45 crianças com doença falciforme (21 meninos e 24 meninas com média de 9 anos, variação de 3 a 13) e 280 amostras de sangue de crianças sem hemoglobinopatias (137 meninos e 143 meninas com média de 10 anos, variação de 8 a 11), como grupo controle. Em todas as amostras foram determinados meta-hemoglobina, glutatona reduzida, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, porcentagem de hemólise, espécies reativas de oxigênio e atividade das enzimas glucose6-fosfato desidrogenase, superóxido dismutase e catalase. Os dados foram analisados com o teste *t* de Student e foram expressos como média $\pm$ desvio padrão. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Resultados: Foram observadas diferenças significativas entre as crianças com doença falciforme e o grupo controle para os parâmetros meta-hemoglobina, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, porcentagem de hemólise, espécies reativas de oxigênio e atividade da enzima glucose6-fosfato desidrogenase, com níveis aumentados nos pacientes.

Conclusões: Foi possível determinar parâmetros de estresse oxidativo em eritrócitos de crianças, com técnicas laboratoriais simples e pequenos volumes de sangue. Esses biomarcadores podem ser úteis na avaliação da progressão e dos resultados de tratamentos da doença.

© 2016 Sociedade Brasileira de Pediatria. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introdução

A doença falciforme é uma das doenças hematológicas mais comuns do mundo e é um problema de saúde pública grave em muitos países, incluindo o Brasil.¹ Há mais de 2 milhões de brasileiros portadores do gene da doença falciforme e estima-se que essa doença tenha uma incidência de um em cada 1.000 nascidos vivos. Em 2001, um decreto do Ministério da Saúde incluiu triagem de hemoglobinopatias nos programas de triagem preexistentes.²

A doença falciforme foi caracterizada como uma doença multissistêmica associada a episódios de doença aguda e dano progressivo em órgãos, que começa na infância e é responsável principalmente por uma expectativa de vida reduzida nos pacientes afetados.³ As taxas de morbidez e mortalidade ainda são altas em pacientes com a doença falciforme. No Brasil, até 25% das crianças afetadas faleceram durante seus primeiros 5 anos de vida, porém o diagnóstico precoce e o tratamento podem reduzir essas taxas e melhorar sua qualidade de vida.⁴

A hemoglobina falciforme resulta de uma substituição de ácido glutâmico por valina na sexta posição da cadeia β globina.⁵ A variação ostensivamente mínima é a origem da hemoglobina S e é responsável pelas alterações significativas na estabilidade e na solubilidade da molécula.⁶ A tendência de a hemoglobina S desoxigenada se submeter a polimerização está na base de inúmeras expressões das síndromes falciformes com hemólise intravascular.⁷ A hemoglobina plasmática livre pode iniciar a peroxidação lipídica e o heme, que prontamente se dissocia da meta-hemoglobina, pode contribuir significativamente para o estresse oxidativo,⁸ que pode desempenhar um papel significativo na fisiopatologia da disfunção microvascular relacionada à doença falciforme, na vaso-oclusão e no desenvolvimento

de lesões nos órgãos.⁹ Os biomarcadores do estresse oxidativo podem, portanto, ser potencialmente úteis, tanto para identificar pacientes com alto risco de dano oxidativo quanto para avaliar os efeitos de terapias antioxidantes.¹⁰

O objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros do estresse oxidativo em eritrócitos de crianças com doença falciforme, incluindo percentuais de hemólise, meta-hemoglobina, glutatona reduzida, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, atividade da glucose-6-fosfato desidrogenase, espécies reativas de oxigênio e as enzimas antioxidantes catalase e superóxido dismutase.

Métodos**Substâncias químicas**

Ácido metafosfórico, 2-mercaptoetanol, pirogalol, hidrocloreto de 2,2-azobis (2-amidinopropano) (AAPH), ácido etilendiaminotetracético (EDTA) e ácido 5,5-ditiobis 2-nitrobenzoico (DTNB) foram obtidos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EUA). Fosfatos de sódio e de potássio, saponina, ácido tricloroacético e ácido tiobarbitúrico foram fornecidos pela Vetec Ltda. (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Citrato de sódio, tris (hidroximetil) aminometano e metanol foram obtidos da Merck (Darmstadt, Alemanha). A atividade da G6PD foi determinada com o PD410 dos Laboratórios Randox (Antrim, Reino Unido). Todos os solventes orgânicos eram de alta qualidade e passaram por dupla destilação e todas as outras substâncias químicas eram de grau analítico.

Amostras de sangue

Foram obtidas amostras de sangue de 45 crianças diagnosticadas com doença falciforme (21 meninos e 24 meninas com

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4154234>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4154234>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)